# Untersuchungen über die Verwendbarkeit der Alkoholfixierungs- und der Infiltrationsmethode zur Messung von Spaltöffnungsweiten

---

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

genehmigt von der philosophischen Fakultät

der

**Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn.**

Von

**Margarete Schorn**

aus Godesberg

Mit 3 Textfiguren

---

**Leipzig**

Verlag von Gebrüder Borntraeger

1929

# Untersuchungen über die Verwendbarkeit der Alkoholfixierungs- und der Infiltrationsmethode zur Messung von Spaltöffnungsweiten

---

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

genehmigt von der philosophischen Fakultät

der

**Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn.**

Von

**Margarete Schorn**

aus Godesberg

Mit 3 Textfiguren

---

**Leipzig**

Verlag von Gebrüder Borntraeger

1929

Berichterstatter:

Professor Dr. H. Fitting

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus Jahrbücher für wissenschaftl. Botanik. Bd. 71. Heft 5.
Gebrüder Borntraeger, Leipzig

## Einleitung.

Für viele Untersuchungen ist es wünschenswert oder notwendig, den Öffnungszustand der Spaltöffnungen kennen zu lernen. Diese Aufgabe begegnet jedoch methodisch bis jetzt noch recht großen, oft kaum überwindlichen Schwierigkeiten. Daher ist viel kritische Umsicht bei solchen Versuchen und bei der Bewertung aller bisherigen einschlägigen Untersuchungen erforderlich. Von Methoden zur Bestimmung von Spaltweiten sind neben der direkten mikroskopischen Beobachtung weitaus am häufigsten die von Lloyd (1908) eingeführte Alkoholfixierung abgezogener Epidermisstücke, sowie die von Molisch (1912) und von E. Stein (auf Anregung Stahls, 1912) eingeführte Infiltration der Blätter mit verschiedenen Flüssigkeiten benutzt worden. Während „von der Infiltrationsmethode mehr als eine ungefähre Schätzung billigerweise nicht verlangt werden darf“ (Linsbauer 1916, S. 101), macht die Lloydsche Methode Anspruch darauf, bei geeigneten Objekten kleinste Änderungen der Spaltenaperturen messend zu erfassen. Vor einer Verallgemeinerung der Methode warnt aber schon Lloyd (1908, S. 27) selbst. Trotzdem scheint sie sich einer allgemeinen Wertschätzung zu erfreuen; nur vereinzelt sind von verschiedenen Autoren Bedenken gegen sie geltend gemacht worden. So nennt Renner (1910, S. 492) die Methode zwar „sehr bequem und sehr brauchbar, aber auch recht gefährlich und einer eingehenden Kritik bedürftig“. Und kürzlich wies Schmucker (1928, S. 782) darauf hin, „daß es nicht möglich ist, selbst bei sehr rascher Beobachtung

an durch Alkohol fixierten Schnitten allgemein und genau den ursprünglichen Öffnungszustand festzustellen". Leider hat er aber keine genaueren Angaben über die Art und Weise dieser Beobachtungen und über seine Resultate gemacht.

Ähnlich umstritten ist der Wert der Infiltrationsmethode, die von verschiedenen Autoren — u. a. Weber (1923), Stålfelt (1908 und 1925) und nach dessen Beispiel Müller (1928) — ebenfalls zu quantitativen Untersuchungen herangezogen worden ist. Doch zeigte sich, worauf als erster übrigens bereits Molisch (1912) aufmerksam gemacht hatte, daß die Folge der Flüssigkeiten innerhalb einer Infiltrationsreihe bei Versuchen mit verschiedenen Pflanzenarten nicht unter allen Umständen konstant ist; denn Molischs Reihe: Alkohol, Benzol, Xylol kehrte sich manchmal teilweise um in Alkohol, Xylol, Benzol, seltener infiltrierte sogar der Alkohol besser als eine der anderen Flüssigkeiten. Auch Schmucker (1928, S. 782) weist — und zwar für die aus 10 Flüssigkeiten bezw. Gemischen bestehende Dietrichsche Reihe (1925, S. 177) — auf solche Abweichungen hin. Derartige Widersprüche konnten durch Anwendung von nur einer Flüssigkeit umgangen werden, indem man die Intensität ihrer Infiltration ermittelte; das ist bei den oben erwähnten Autoren geschehen. Eine Reihe anderer Mängel, so z. B. die Unterschiede in den Infiltrationsbildern zwischen homo- und heterobarischen, auch zwischen amphi- und hypostomatischen Blättern, fallen deswegen nicht ins Gewicht, weil die Infiltrationsmethode sowieso nur Vergleiche zwischen Blättern derselben Pflanzenart und zwar nur für ein und dieselbe Blattseite gestattet. Sehr störend wirkt dagegen häufig die starke Ausbreitung der Flüssigkeiten im Mesophyll, wodurch auch die Ergebnisse bei Verwendung nur eines Infiltrationsmediums durch Vortäuschung größerer Öffnungsweiten verschleiert werden können; so verhält sich u. a. auch das mit Vorliebe verwendete Xylol. Ein ebenso großer Mangel der Infiltrationsmethode, auf den Stålfelt (1916) hingewiesen hat, besteht bei amphistomatischen Blättern darin, daß sich das Infiltrationsbild auf ein und derselben Blattseite ändert, je nachdem ob die Spalten der Gegenseite offen oder geschlossen sind.

Nach diesen Ausführungen fragt es sich, ob die Infiltration mit irgend einer beliebigen Flüssigkeit oder mit einer Reihe solcher Flüssigkeiten überhaupt imstande ist, den wirklichen Verlauf von Spaltenbewegungen mit hinreichender Genauigkeit zu erfassen.

Sollte es doch der Fall sein, so ist nicht ohne weiteres einzusehen, warum auf verschiedenem Wege ausgeführte Infiltrationsversuche bei demselben Objekt nicht untereinander ähnliche Resultate liefern und sich nicht mittels anderer Methoden bestätigen lassen sollten. Von diesem Gesichtspunkte aus hatte ich eine Reihe von Versuchen ausgeführt — sie sollen unten genauer beschrieben werden —, die aber zu ganz widersprechenden Ergebnissen geführt und damit die Veranlassung zu der vorliegenden Arbeit gegeben haben. Ihre Aufgabe war, die Verwendbarkeit der Infiltrations- und der Alkoholmethode für Bestimmungen von Spaltöffnungsweiten empirisch zu prüfen und zur Klärung der Gründe für die Unstimmigkeiten beizutragen, die dabei auftraten.

## Abschnitt I.

## Vergleichende Versuche mit der Infiltrations- und Alkoholmethode.

Ursprünglich war beabsichtigt, die Spaltenbewegungen bei Schatten- und Sonnenpflanzen im Laufe eines Tages sowohl mit Hilfe der Infiltrations- wie der Alkoholfixierungsmethode zu verfolgen. Dem Vorgang Dietrichs entsprechend schien es mir am ersten angebracht, zur Infiltration eine größere Reihe von Flüssigkeiten zu benutzen, diese aber aus später zu erörternden Gründen aus der Mischung nur weniger, möglichst bloß zweier Flüssigkeiten herzustellen. Zwei solche Reihen aus 11 Abstufungen kamen zunächst zur Verwendung; die eine bestand aus Petroläther und Paraffinum liquidum und Gemischen dieser beiden Flüssigkeiten im Verhältnis 1 : 9, 2 : 8, 3 : 7 usw. Als zweite Reihe gebrauchte ich daneben verschiedenprozentigen Äthylalkohol; da aber absoluter Alkohol meist noch relativ schwer eindringt, habe ich die Reihe ergänzt durch Mischungen des absoluten Alkohols mit Petroläther und durch den letzteren selbst als leichtest eindringendes Medium, so daß schließlich in dieser Reihe folgende Infiltrationsflüssigkeiten benutzt wurden: 1) Petroläther, 2) Petroläther : Äthylalkohol im Verhältnis 2 : 1, 3) 1 : 2, 4) 1 : 4, 5) absoluter Alkohol, 6) 98 %, 7) 96 %, 8) 94 %, 9) 90 %, 10) 85 % und schließlich 11) 80 % Alkohol.

Ich habe gerade diese beiden Reihen einander gegenüber gestellt, weil sie sich in ihren Infiltrationsbildern wesentlich voneinander unterscheiden. Die Paraffine — sowohl die flüchtigen des Petroläthers als auch die höheren des Paraffinum liquidum —

breiten sich in den Interzellularen sehr stark weiter aus, überschreiten dabei innerhalb der Interzellularen oft die Grenzen des Tropfens und infiltrieren auch dann verhältnismäßig große, zusammenhängende Flächen, wenn sie zunächst nur an isolierten Punkten, unter Umständen nur an einer einzigen Stelle eingedrungen sind. Die Alkohole infiltrieren dagegen fast ausschließlich an wohl unterscheidbaren, mehr oder weniger zahlreichen Punkten, verbreiten sich meist nur wenig, nie über den Tropfenrand hinaus, und die Infiltrationsflüssigkeit verschmilzt nur bei weit offenen Spalten von diesen Punkten aus zu einer einheitlichen Fläche.

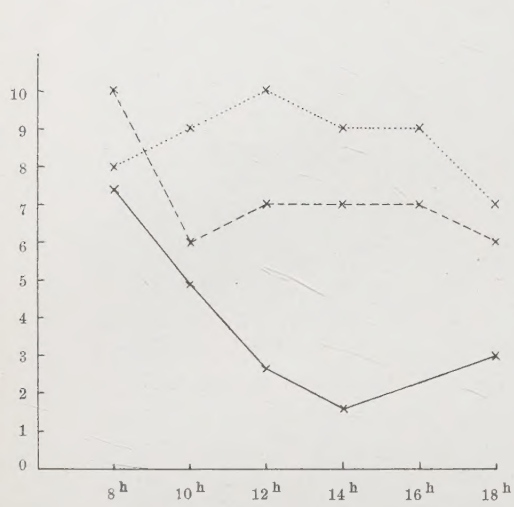
In den Protokollen wurde jeweils diejenige Flüssigkeit angegeben, die als erste in der Reihe nicht mehr eindrang. Im folgenden soll für die zweite Reihe die oben angegebene Numerierung beibehalten, für die erste dagegen die Bezifferung von I bis XI für Petroläther bis Paraffin eingeführt werden. Dringt der 80proz. Alkohol (bezw. das Paraffin) selbst noch ein, so wird noch Nummer 12 (bezw. XII) hinzugefügt.

Von vornherein wäre nun zu erwarten gewesen, daß die Infiltrationserfolge bei beiden Reihen einander parallel gehen, daß also eine Öffnung der Spalten bei beiden Reihen durch Eindringen höherer Glieder gekennzeichnet wird, und daß umgekehrt beim Spaltenschluß von beiden Reihen nur noch leicht eindringende Flüssigkeiten infiltrieren, wenn auch die Größe des Anstiegs bezw. Abfalls in jeder Reihe durchaus verschieden sein könnte. Es zeigte sich aber bald, daß jene Erwartungen sich nicht erfüllten, wenn auch freilich ganz grobe Abweichungen voneinander nur selten vorkamen.

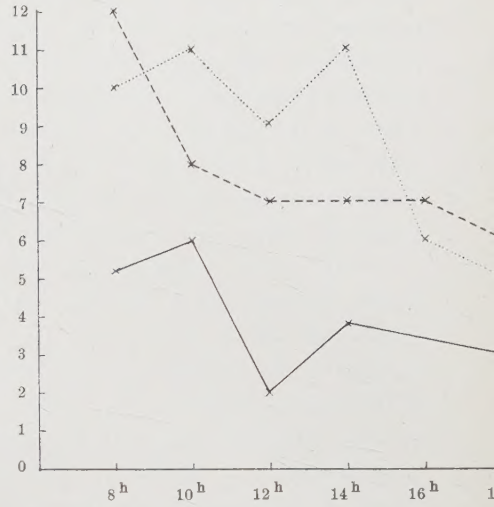
In Fig. 1 (vgl. S. 788) sind einige meiner Versuchsergebnisse wiedergegeben. In Abb. *a* zeigt die Paraffinreihe zwischen 8 und 10 Uhr eine deutliche Schließbewegung der Spalten an, während die Alkoholreihe umgekehrt ein schwaches Öffnen vermuten läßt; dasselbe Bild findet sich in *b* wieder; dazu kommen zwischen 12 und 16 Uhr erhebliche Schwankungen der Spaltenaperturen nach der Alkoholinfiltration, während in dieser Zeit zufolge der anderen Reihe die Spalten keinerlei Bewegungen ausgeführt haben dürften. In Abb. *c* verlaufen die beiden Kurven zwischen 6 und 10 Uhr wieder in entgegengesetztem Sinne; am Nachmittag ist gemäß der Paraffinreihe eine Schließbewegung eingeleitet, während die Alkoholreihe nichts davon erkennen läßt. Auch bei *Vinca* fallen einige beträchtliche Abweichungen beider Kurven auf, obwohl bei dieser

Gattung die relativ besten Ergebnisse erzielt wurden. Aus den Kurven geht auch ohne weiteres hervor, daß die anscheinend berechtigte Forderung, bei ein und derselben Pflanze müsse mit einer bestimmten Flüssigkeit der einen Reihe stets eine ebenfalls bestimmte Flüssigkeit der anderen Reihe korrespondieren, nicht zutrifft; z. B. infiltriert mit VII gleichzeitig 6, 9, 10 und 11, andererseits findet sich mit 11 zusammen VII, VIII, X und XI. Diese Beispiele ließen sich noch vermehren; denn auch bei verschiedenen anderen Pflanzen wurden ähnliche Unstimmigkeiten gefunden.

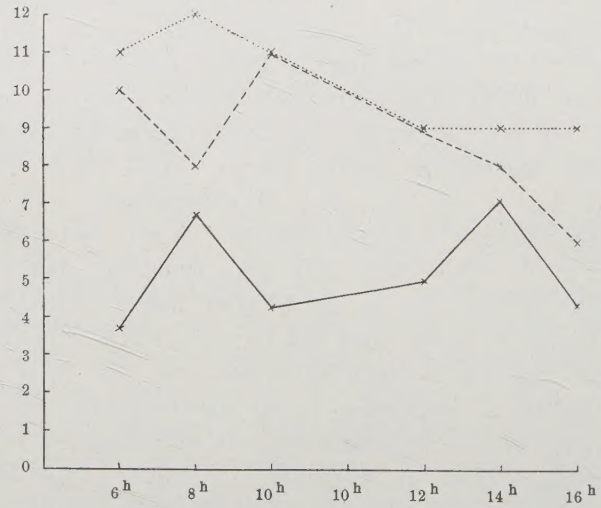
Als zweite Methode war gleichzeitig die Lloydsche Alkoholfixierung angewandt worden. Dünne Oberflächenschnitte von drei möglichst gleich inserierten und gleich großen Blättern wurden schnell in absoluten Alkohol gebracht, der vorher mittels Kupfersulfats getrocknet worden war. Da es sich um ein recht umfangreiches Material handelte, verzichtete ich darauf, die Spalten zu messen, sondern versuchte, ähnlich dem Vorgange von Johansson (1926, S. 122), durch Abschätzung der Öffnungsweiten um so zahlreicherer Spalten brauchbare Werte zu erhalten. Geschätzt wurde dabei das Verhältnis von Weite zu Länge des Porus, das sich auch bei verschiedensten Größen des Spaltöffnungsapparates viel sicherer als absolute Weiten der Spalte feststellen läßt. Zwischen die Werte „geschlossen“ und „maximal offen“ wurden bei kleinen Spalten noch 2, bei großen noch 4 Zwischenstadien eingeschaltet, die für jedes Objekt zunächst mittels Zeichenapparates festgelegt wurden, so daß von Zeit zu Zeit die Schätzung an den Zeichnungen immer wieder kontrolliert werden konnte. Die 4 (bezw. 6) Größen wurden mit $A_0$, $A_I$, $A_{II}$, $A_{III}$, ($A_{IV}$, $A_V$) bezeichnet, und die verhältnismäßige Häufigkeit jeder Größe in Vierteln (bezw. Sechsteln) angegeben; z. B. würde $1\,A_0$, $2\,A_I$, $1\,A_{II}$ bedeuten, daß von allen beobachteten Spalten ca. $^1/_4$ geschlossen waren, die Hälfte die geringe Öffnung $A_I$ hatte, und ein letztes Viertel vom Grade $A_{II}$ geöffnet war, das würde einen Mittelwert von $(0 + 2 + 2) : 4 = I$ ergeben. Um die so erhaltenen Werte untereinander und mit den Infiltrationsergebnissen bequemer vergleichen zu können, wurden sie für eine 12teilige Skala umgerechnet, d. h. mit 3 (12/4) bezw. mit 2 (12/6) multipliziert. Ein Mangel dieser Methode besteht zweifellos darin, daß die erhaltenen Zahlen nur Grade der Öffnung, diese aber nicht selbst in irgendeinem absoluten Maß angeben, somit nur geeignet sind, den Verlauf der Spaltenbewegung zu veranschaulichen, worauf es aber gerade bei dieser Darstellung ankam.




*a)* 2. VIII. *Fagopyrum esculentum* (Sonnenexemplar).



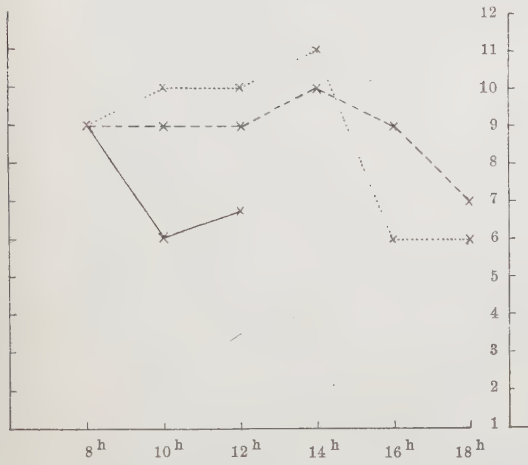

*b)* 2. VIII. *Fagopyrum esculentum* (Schattenexemplar).



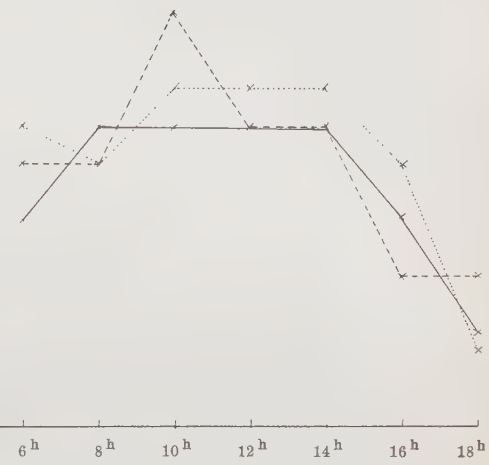

*c)* 3. VIII. *Fagopyrum esculentum* (Sonnenexemplar).

Fig. 1. Vergleich der Spaltenweiten nach verschiedenen Methoden.

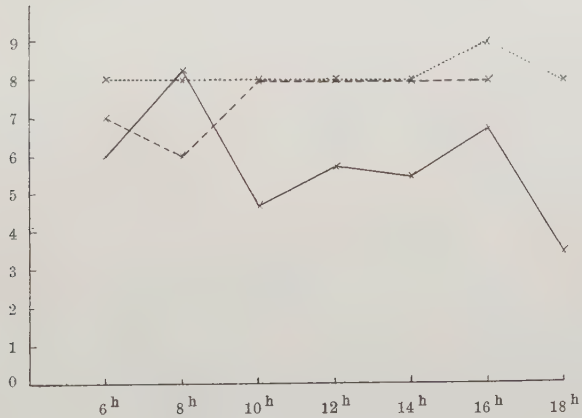
Über die Bedeutung der Ordinaten




*d)* 2. VIII. *Vinca minor* (Schattenexemplar).




*e)* 3. VIII. *Vinca minor* (Sonnenexemplar).




*f)* 4. VIII. *Vinca minor* (Schattenexemplar).

..... Alkoholinfiltration, ------ Paraffininfiltration, —— Alkoholfixierung.

vgl. Text S. 785 f. und S. 787.

An Genauigkeit dürfte jedoch diese Schätzungsmethode, wie auch Johansson (1926) betont, einer Messung deswegen wenig oder gar nicht nachstehen, weil auf diese Weise sehr viel zahlreichere der auch im selben Schnitt sehr verschieden weit geöffneten Spalten berücksichtigt werden können.

Vergleicht man nun die mit dieser Methode gewonnenen Resultate mit den Infiltrationskurven der Fig. 1, so finden sich auch hierbei wieder allerhand Unstimmigkeiten. Zeigt z. B. Abb. *b* ein ziemlich übereinstimmendes Bild bei der Alkoholfixierungsmethode und der Alkoholinfiltration, so ist das dagegen bei *a* nicht im geringsten, bei *c* nur teilweise der Fall. Auch die Kurve der Paraffininfiltration verläuft ganz anders, bei *c* sogar nahezu spiegelbildlich zu der mit der Alkoholfixierungsmethode erhaltenen. Für *Vinca* sind die Unterschiede nicht so schroff: in Abb. *e* und *f* laufen die mittels der direkten Beobachtung und der Alkoholinfiltration gewonnenen Kurven teilweise sogar ziemlich parallel; doch kommt es auch hier vor, daß einem Öffnen der Spalten nach der einen Methode ein Schließen nach der anderen entspricht. Die angeführten Beispiele sind wieder aus zahlreichen solchen Fällen ausgewählt.

Im ganzen zeigten sich also einerseits Unterschiede zwischen den beiden Infiltrationsmethoden sowie andererseits zwischen diesen und der Alkoholfixierung. Auf Grund dieser Ergebnisse ist es sicher, daß wenigstens eine der angewandten Methoden für die angestrebten Untersuchungen unzulänglich ist. Nunmehr entstand die Frage, ob die Unstimmigkeiten auf dem Versagen beider Methoden oder bloß einer und dann welcher beruhen, mit anderen Worten: Kann die Alkoholfixierungsmethode und kann die Infiltrationsmethode uns ein zuverlässiges Bild der Spaltöffnungsbewegungen geben?

## Abschnitt II.

## Die Alkoholfixierungsmethode.

### 1. Vergleichung der Weiten ein und derselben Spalte in Wasser und in Alkohol.

Zunächst wurde versucht, die Größe ein und derselben Spalte vor und nach ihrer Fixierung in Alkohol zu messen. Ich benutzte dazu dünne Oberflächenschnitte, die nur noch wenig Mesophyll enthielten, aber nicht abgezogene Epidermisstücke wie Lloyd

(1908), Loftfield (1921) u. a. Ich zog Schnitte den abgezogenen Epidermen deshalb vor, weil in letzteren (ebenso wie übrigens an besonders dünnen Stellen eines Schnittes) die Spalten manchmal besonders weit geöffnet sind. Diese in der Literatur öfter erwähnte Tatsache haben Lloyd (1908, S. 28) und Renner (1910, S. 492 ff.) eingehend besprochen. Letzterer hält diese Erscheinung für die mögliche Folge einer — wenn auch noch nicht sichtbaren — Verletzung der Nebenzellen; für diese Annahme spricht außer den von ihm angeführten Gründen auch die Tatsache, daß derartig weite Öffnungen, wie sie gerade solche Spalten häufig zeigen, bei direkter mikroskopischer Beobachtung eines unverletzten Blattes nie gefunden wurden, ferner, daß an Stellen, wo wirklich deutliche Verletzungen der Nebenzellen vorhanden sind, oft übermäßig weit geöffnete Spalten auftreten.

Es hätte am nächsten gelegen, die Schnitte ohne Deckglas in Luft zu untersuchen; doch reagierten die Stomata dann gewöhnlich sehr schnell, teils durch Öffnungs-, teils durch Schließbewegungen. Außerdem trockneten solche Schnitte bereits ein, bevor die Spalten zur Ruhe gekommen waren. Ich zog es darum vor, die Schnitte in Wasser unter Deckglas zu untersuchen. Störend wirkte dabei die den Spalten adhärierende Luft, namentlich wenn jene mehr oder weniger eingesenkt waren, weswegen sie erst durch Evakuieren entfernt werden mußte. Nur bei besonders kleinen Poren, wie denen von *Vinca*, gelang das nicht; solche Pflanzen wurden deshalb nicht verwandt. Um Stomatabewegungen während der Messungen zu vermeiden, ließ ich die Schnitte zunächst einige Zeit (gewöhnlich $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden) im Wasser liegen, um irgend einen konstanten Öffnungszustand zu erreichen. Bei vielen Pflanzen, z. B. *Anagallis*, tritt allerdings im Wasser nach kurzer Zeit vollständiger Spaltenschluß ein; solche mußten natürlich ausgeschieden werden. Häufig bleibt aber wenigstens eine Anzahl Spalten geöffnet, von denen alsdann der Zentralspalt mittels Okularmikrometers gemessen werden konnte. Zuvor wurden die Schnitte aufgezeichnet, und in die Zeichnungen die zu messenden Spalten (eine bis höchstens fünf von einem Schnitt) so eingetragen, daß ich sie jederzeit an Hand der Skizzen leicht wieder auffinden konnte. Wurden in einem Schnitt mehrere Spalten ausgewählt, so überzeugte ich mich öfter davon, daß am Ende der Messung die zuerst gemessene sich nicht etwa inzwischen verändert hatte. Gemessen wurde die Breite des Porus, meist auch seine Länge.

Doch ist letzteres von untergeordneter Bedeutung; die Meßfehler können dabei nämlich sehr groß werden, weil es oft, besonders bei geringer Öffnungsweite, kaum möglich ist, auf die Enden des Spaltes genau einzustellen. Zum Messen dienten ein Okularschraubenmikrometer und je nach den Spaltengrößen verschiedene Objektive (Leitz Nr. 4, 5, 7 und Zeiß DD). Die Fehler, die durch wiederholte Messung ein und derselben Spalte in verschiedener Lage festgestellt wurden, betrugen für Objektiv 4 $\pm$ 1, für Objektiv 5 und 7 $\pm$ $1^1/_2$ Teilstriche der Trommel des Okularmikrometers (ein Teilstrich ist bei Objektiv 4 = 0,65 $\mu$, Objektiv 5 = 0,27 $\mu$, Objektiv 7 = 0,15 $\mu$ und Objektiv DD = 0,22 $\mu$). Da es auf die absoluten Werte im folgenden nicht ankommt, sind in den Tabellen die Größen in Teilstrichen der jeweiligen Messung, nicht auf ein einheitliches Maß umgerechnet, angegeben.

Vor der Überführung in den Alkohol war es nötig, den Schnitt zunächst mit Filtrierpapier so weit wie möglich zu trocknen, damit nicht durch oberflächlich ihm anhaftendes Wasser der Alkohol verdünnt wurde. Es lag aber dabei die Gefahr nahe, daß die Spalten sich schon während dieser freilich nur wenige Sekunden in Anspruch nehmenden Behandlung veränderten; deswegen habe ich mehrmals, bei den meisten der untersuchten Pflanzenarten, die Schnitte nach dem Abtrocknen nochmals in Wasser gemessen, dabei aber in keinem Fall eine Veränderung feststellen können. Infolge der Abtrocknung litten die Schnitte allerdings bei Pflanzen mit besonders zarter Epidermis (z. B. *Sagittaria*) sehr leicht, weswegen solche Pflanzen nicht verwandt werden konnten. Die Schnitte wurden verschieden lange in Alkohol gelassen und schließlich auch in Alkohol auf dem Objektträger untersucht. Zunächst hatte ich stets absoluten Alkohol benutzt; nachdem ich aber wiederholt gefunden hatte, daß bei Verwendung von 98proz. Alkohol sich genau dieselben Verhältnisse ergaben wie beim entwässerten, verwendete ich später meist nur 98prozentigen. Die Mittelwerte für die auf diese Weise erlangten Resultate sind in Tabelle 4 angegeben. Die zuerst aufgeführten Pflanzen *Impatiens parviflora*, *Isatis tinctoria* und *Elatostemma sessile* stimmen darin überein, daß Länge und Breite des Porus nach der Übertragung in den Alkohol bei den meisten Messungen wirklich unverändert bleiben, sich also so verhalten, wie es für die Alkoholfixierung vorausgesetzt werden muß, wenn sie tatsächlich imstande sein soll, den jeweiligen Stomatazustand exakt zu fixieren. Auffallend sind aber

einige, wenn auch vereinzelte Abweichungen, die die Fehlergrenzen der Messungen überschreiten; sie zeigen, daß sich die Spalten im Alkohol zum Teil öffnen, zum Teil verengen. Eine Ursache für dieses Verhalten läßt sich aber nicht erkennen, da die veränderten Spalten in allen Fällen aus solchen Schnitten stammen, aus denen auch noch andere gemessen wurden, die unverändert blieben: auch kann der Grund nicht in einer verschiedenen Lage der Spalten gesucht werden; denn gemessen wurden nur solche Spalten, unter denen gleichmäßig wenig Mesophyll vorhanden war. Ähnlich verhält sich auch *Asarum europaeum*; doch waren hier die Änderungen der Porenweiten in Alkohol häufiger.

Für die genannten Pflanzen also ändert sich die Porenweite im allgemeinen bei der Fixierung nicht; für sie dürfte also die Lloydsche Methode brauchbar sein. Sie läßt sich demnach zweifellos für ganz verschiedene Blätter verwenden: z. B. für Blätter von *Isatis*, einer ausgesprochenen Sonnen-, von *Elatostemma*, einer extremen Schattenpflanze, auch für so verschieden gebaute Blätter, wie das zarte *Impatiens*- und das dicke *Asarum*-Blatt. Ferner darf angenommen werden, daß diese Arten auch unter verschiedenen klimatischen und edaphischen Verhältnissen gleich reagieren; denn von *Impatiens* habe ich sowohl Exemplare benutzt, die als Kümmerlinge trocken und sonnig zwischen den Fugen einer Steintreppe gestanden, als auch solche, die sich an schattigen, feuchten Plätzen sehr kräftig entwickelt hatten. Zu den Versuchen mit *Elatostemma* habe ich teils eingetopfte, teils in den Gewächshäusern frei wurzelnde Pflanzen verwandt.

Anders liegen die Dinge in Tabelle 1, in der die Ergebnisse für *Convallaria majalis* niedergelegt sind. Auch hier stimmen die Porenweiten in Wasser und Alkohol bei der Mehrzahl der Spalten überein; jedoch bei einem anderen, noch immer relativ großen Teil ist eine deutliche Weitenzunahme zu bemerken, die in vielen Fällen über die Grenze der Meßfehler hinausgeht. Ebensowenig wie für die oben besprochenen Pflanzen treten diese Abweichungen bei allen im selben Schnitt gemessenen Spalten auf, sondern sind regellos über die verschiedenen Schnitte verteilt. (Die in einem Schnitt gemessenen Spalten sind zwischen den Querstrichen der Tabelle enthalten.) Eine Verengerung wurde in drei Fällen beobachtet; doch wäre es dabei, da es sich um ein und denselben Schnitt handelt, möglich, daß durch irgend ein Versehen der Alkohol etwas verdünnt worden war, besonders weil bei den zahl-

reichen späteren Messungen eine solche Verengerung sich nicht wiederholte.

Tabelle 1.

Spaltgrößen von *Convallaria majalis* in Wasser und Alkohol (Obj. 4).

| Weite | | Länge | | Weite | | Länge | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wasser | Alkohol nach 1 Tag | Wasser | Alkohol nach 1 Tag | Wasser | Alkohol nach 6 Tagen | Wasser | Alkohol nach 6 Tagen |
| $5^1/_2$ | 6 | 29 | 29 | 6 | **$8^1/_2$** | 23 | 23 |
| 2 | $2^1/_2$ | 24 | $21^1/_2$ | 4 | $4^1/_2$ | $24^1/_2$ | 25 |
| 7 | 8 | $28^1/_2$ | $22^1/_2$ | $10^1/_2$ | $10^1/_2$ | 31 | $26^1/_2$ |
| 6 | 8 | $33^1/_2$ | $28^1/_2$ | 4 | **8** | $23^1/_2$ | $24^1/_2$ |
| $5^1/_2$ | 6 | $29^1/_2$ | 29 | $6^1/_2$ | $7^1/_2$ | $24^1/_2$ | $24^1/_2$ |
| 7 | $6^1/_2$ | 29 | 24 | $9^1/_2$ | 8 | $26^1/_2$ | $22^1/_2$ |
| $7^1/_2$ | 8 | 27 | 24 | 6 | **9** | 23 | 25 |
| $5^1/_2$ | **$11^1/_2$** | 21 | $20^1/_2$ | 7 | 8 | $22^1/_2$ | $21^1/_2$ |
| 5 | *$2^1/_2$* | 17 | $20^1/_2$ | $3^1/_2$ | **$8^1/_2$** | $24^1/_2$ | 26 |
| 7 | *3* | 23 | $25^1/_2$ | 6 | $6^1/_2$ | $27^1/_2$ | $23^1/_2$ |
| 10 | *$7^1/_2$* | $34^1/_2$ | 32 | $6^1/_2$ | $6^1/_2$ | $25^1/_2$ | $29^1/_2$ |
| | | | | $4^1/_2$ | $6^1/_2$ | $26^1/_2$ | $26^1/_2$ |
| | | | | $3^1/_2$ | **$7^1/_2$** | 25 | $26^1/_2$ |

Zur Erklärung der Weitenzunahme einiger Spalten bei der Fixierung im Alkohol kann man wohl nicht annehmen, daß eine vorhandene Bewegungstendenz im Augenblick des Absterbens ausgelöst wurde; denn alle Schnitte hatten, wie oben angegeben, schon eine gewisse Zeit im Wasser gelegen, so daß wenigstens im selben Schnitt die Spalten ähnlich gestimmt gewesen sein dürften.

Es fiel auf, daß die Spaltenerweiterung fast ausschließlich in den Schnitten auftrat, die vor der zweiten Messung 6 Tage im Alkohol gelegen hatten, während bei denen, die nur einen Tag darin lagen, kaum eine Änderung festzustellen war. Die Annahme lag daher nahe, daß es sich dabei um irgend einen sekundären, postmortalen Vorgang handelt, der mit der Fixierung eigentlich nichts zu tun hat. Um darüber Klarheit zu gewinnen, wurden die Stomata gemessen, nachdem sie erst relativ kurze Zeit im Alkohol gelegen hatten. Danach kam der Schnitt wieder in den Alkohol zurück. Die Spalten wurden hierauf nach einigen Stunden bis Tagen ein zweites, eventuell nach weiteren Zeitabständen noch ein drittes und viertes Mal gemessen. Doch war der Erfolg der

zahlreichen wiederholten Messungen in allen Fällen derselbe: Spalten, die sich nicht sogleich geöffnet hatten, behielten auch nach längerer Zeit ihre ursprüngliche Weite bei.

Ebenso wie *Convallaria* reagierten *Polygonatum multiflorum*, *Circaea lutetiana* und *Mercurialis annua*, welche letztere als echte Sonnenart einen ökologischen Gegensatz zu den drei schattenliebenden Waldpflanzen bildet. Auch bei *Anagallis*, das wegen nahezu völligen Spaltenschlusses im Wasser als Versuchsobjekt schlecht geeignet schien, öffneten sich bei einem in den Alkohol eingelegten Schnitt die vorher geschlossenen Spalten ein wenig.

Gemeinsam ist also dieser zweiten Gruppe von Blättern, daß ihre Spalten in Alkohol zum Teil weiter aufgehen, wenn auch ein hoher Prozentsatz unverändert bleibt. Entsprechend verhält sich übrigens bei der Fixierung nach Lloyd (1908, S. 27) *Brodiaea*.

Daß selbst nahe verwandte Arten sich in ihrer Reaktionsweise gegen den Alkohol stark unterscheiden können, lehrt Tabelle 2, die die Spaltweiten für *Mercurialis perennis* in Wasser und Alkohol angibt. Sofern die Spalten sich überhaupt im Alkohol änderten, zeigten sie alle einen deutlichen Rückgang der Öffnung, und zwar ist dieses Ergebnis unabhängig von der Zeit, während der der Schnitt im Alkohol gelegen hat. Um eine Wirkung des bloß 98proz. Alkohols kann es sich dabei nicht handeln, da nach den ersten Versuchen nur noch absoluter Alkohol für *Mercurialis perennis* verwandt wurde, was aber an den Resultaten nichts änderte.

Tabelle 2.

*Mercurialis perennis.* Spaltweiten in Wasser und Alkohol (Obj. 4).

| Wasser | Alkohol nach **4 Stdn.** | Wasser | Alkohol nach **3 Tagen** | Wasser | Alkohol nach **4 Tagen** | Wasser | Alkohol nach **5 Tagen** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 1 | $8^1/_2$ | $9^1/_2$ | $3^1/_2$ | $1^1/_2$ | 1 | 0 |
| 6 | 3 | 12 | $11^1/_2$ | 5 | 3 | 6 | $3^1/_2$ |
| $5^1/_2$ | 6 | 2 | $2^1/_2$ | $8^1/_2$ | $4^1/_2$ | 4 | $3^1/_2$ |
| | nach **1 Tag** | 0 | 0 | $5^1/_2$ | 1 | $9^1/_2$ | $7^1/_2$ |
| $4^1/_2$ | 4 | $5^1/_2$ | $5^1/_2$ | 9 | $4^1/_2$ | $4^1/_2$ | $2^1/_2$ |
| 1 | $1^1/_2$ | 5 | $5^1/_2$ | 0 | 0 | $7^1/_2$ | $4^1/_2$ |
| 5 | 5 | 3 | $3^1/_2$ | $2^1/_2$ | $2^1/_2$ | | |
| | | $1^1/_2$ | $1^1/_2$ | $2^1/_2$ | $2^1/_2$ | | |
| | | 4 | $4^1/_2$ | | | | |
| | | $3^1/_2$ | 3 | | | | |
| | | 7 | 6 | | | | |

Auffallend ist, daß bei dieser Pflanze auch in den Spaltlängen, von denen eine Anzahl in Tabelle 3 angegeben ist, durch die Fixierung eine merkliche Reduktion eintritt. Eine Längenzunahme war dagegen unter den im ganzen 30 Messungen nur dreimal nachweisbar; ihr Wert lag aber noch innerhalb der Fehlergrenze, die hier ca. ± 4 Teilstriche beträgt. Das letztere gilt übrigens auch für die meisten Werte, die auf eine Längenabnahme deuten. Doch ist beachtenswert, daß fast immer nur eine solche Abnahme gemessen wurde; das spricht doch wohl dafür, daß es sich nicht nur um Meßfehler handeln kann; zudem gehen einzelne Werte sicher über die Fehlergrenze hinaus. Es scheint sich hier also nicht bloß um eine Schließbewegung der Spalten, sondern auch um eine, wenn auch geringe, allgemeine Schrumpfung zu handeln, die freilich noch von einer Spaltenverengerung begleitet wird.

Tabelle 3.

Spaltlängen von *Mercurialis perennis* in Wasser und Alkohol (Obj. 4).

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| W.: | 39 | 13 | 20 | $18^1/_2$ | $20^1/_2$ | 20 | $17^1/_2$ | 24 | 21 | $18^1/_2$ |
| A.: | 30 | 13 | $13^1/_2$ | $14^1/_2$ | 14 | 17 | $15^1/_2$ | 16 | $15^1/_2$ | 16 |

Ein Schluß der Spalten wie bei *Mercurialis perennis* kommt durch Alkoholfixierung auch bei *Ranunculus Ficaria* und *Syringa vulgaris* zustande. Die Spaltlänge wurde bei *R. Ficaria* nicht gemessen; bei *Syringa* bleibt sie im Gegensatz zu *Mercurialis* konstant; es liegt offenbar nur eine Schließbewegung vor.

Es lassen sich also drei Typen mit verschiedenem Verhalten gegenüber dem Alkohol unterscheiden: Der erste Typus behält seine Spaltenaperturen im Alkohol bei. Mit Lloyd (1908) und Loftfield (1921) kann man wohl in diesem Falle annehmen, daß der absolute Alkohol die Zellen so plötzlich abtötet, ferner die Zellwände so schnell entwässert und damit härtet, daß sie fast augenblicklich ihr Bewegungsvermögen verlieren und dabei in genau demselben Zustand fixiert werden, in dem sie sich im Augenblick des Absterbens befanden. Beim zweiten Typus erweitert sich eine Anzahl der Spalten bei der Übertragung in den Alkohol. Dieses Verhalten ist schwer verständlich. Vielleicht tritt der Tod im Alkohol nicht gleichzeitig in allen Zellen ein, vielleicht also in den Spaltöffnungszellen später als in den übrigen Epidermiszellen. Etwas derartiges ist beim Absterben infolge anderer Ursachen tatsächlich nachgewiesen worden (vgl. z. B. Kindermann, 1902; Weber, 1926).

Geht nun gleichzeitig die Entwässerung so langsam vor sich, daß die Membranen zunächst noch passiv bewegt werden können, so müssen sich die noch lebenden turgeszenten Schließzellen auf Kosten der erschlaffenden Neben- und Epidermiszellen ausdehnen, und der Spalt wird sich öffnen. Beim dritten Typus dagegen werden die Spalten im Alkohol verengt. Eine solche Schließbewegung kann vielleicht als eine Reizbeantwortung der noch lebenden Zelle auf den sie schädigenden Alkohol angesehen werden. Entsprechendes läßt sich leicht unter dem Mikroskop beobachten: Bei Zusatz von etwas Alkohol zum Wasser, wobei die schwache Konzentration zu einer Fixierung noch nicht ausreicht, schließen sich die Spalten sehr bald vollkommen. Wahrscheinlicher ist aber die bei der Fixierung auftretende Schließbewegung eine postmortale Erscheinung. Tritt die Härtung der Membranen nicht schnell genug ein, so müssen sich ja die Zellen infolge der Aufhebung des Turgordruckes zusammenziehen; bei den Schließzellen bedeutet das gleichzeitig eine Verengerung des Spalts.

Meist, aber nicht immer, z. B. nicht bei *Polygonum amphibium*, bleiben alle besprochenen Veränderungen auf einen Teil der Spalten beschränkt, so daß die Fehler, wenigstens bei zahlreichen Messungen, relativ klein sein werden. Immerhin betragen diese, wie Tabelle 4 zeigt, in der die Mittel für die oben angegebenen Einzelwerte zusammengestellt sind, noch rund 20—45 %.

Tabelle 4.

Mittelwerte der Spaltweiten in Wasser und Alkohol.

| | Zahl der Einzelmessungen | Wasser | Alkohol | Änderung in % |
|---|---|---|---|---|
| *Impatiens parviflora* . . . . | 25 | 5,3 | 5,0 | — 5,7 |
| *Isatis tinctoria* . . . . . | 14 | 5,2 | 5,5 | + 5,8 |
| *Elatostemma sessile* . . . . | 26 | 8,2 | 8,9 | + 8,5 |
| *Convallaria majalis* . . . . | 54 | 8,1 | 10,6 | + 30,8 |
| *Mercurialis annua* . . . . . | 17 | 3,9 | 5,6 | + 43,6 |
| *Mercurialis perennis* . . . . | 31 | 4,7 | 3,8 | — 20 |

Gegen die ganze von mir angewendete Methode läßt sich nun einwenden, daß ein im Wasser liegender Schnitt sich überhaupt nicht mehr unter natürlichen Bedingungen befindet, sondern daß

sehr wahrscheinlich seine Membranen maximal imbibiert sind, was sonst nur selten, bei manchen Pflanzen vielleicht nie vorkommen wird. Deshalb war es zunächst interessant, das Verhalten von Schwimmblättern einiger Wasserpflanzen zu untersuchen, da diese sich im Wasser unter natürlichen Bedingungen befinden. Die meisten derartigen Versuche scheiterten aber an den allzu weichen Membranen solcher Pflanzen, wodurch die Schnitte sich falteten und unbrauchbar wurden. Nur bei *Polygonum amphibium* gelang die Messung bei wenigen Schnitten; die Resultate sind in Tabelle 5 zusammengefaßt (die senkrechten Striche trennen die einzelnen Schnitte): *Polygonum* gehört dem zweiten Typus an[1]). Da bei dieser Wasserpflanze also auch die für diesen Typus bezeichnende Spaltenerweiterung auftritt, darf man wohl annehmen, daß eine solche keine Folge unnatürlicher Versuchsbedingungen ist. Vielleicht besteht bei der Fixierung im Alkohol irgend eine schwer faßbare Beziehung zwischen dem Quellungszustand der Membranen und dem Öffnen der Stomata. Doch wiederholt sich auch bei nicht maximal gequollenen Membranen, wie wir noch sehen werden, die Erweiterung der Spalten in diesem Fixierungsmittel.

Tabelle 5.

Spaltweiten von *Polygonum amphibium* (Obj. 7).

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| in Wasser . . . . . | 13 | $25^1/_2$ | 23 | $16^1/_2$ | $16^1/_2$ | 24 |
| in Alkohol nach 2 Tagen . . . | $7^1/_2$ | $34^1/_2$ | 38 | 36 | $25^1/_2$ | — |
| „ „ „ 7 Wochen . . | 0 | $37^1/_2$ | $38^1/_2$ | 34 | 27 | $29^1/_2$ |

## 2. Messungen an ein und derselben Spalte in Rizinusöl und in Alkohol.

Um das quellende Wasser auszuschalten, habe ich mich in weiteren Versuchen bemüht, es durch eine indifferentere Flüssigkeit zu ersetzen. Diese mußte für die Pflanzen unschädlich bleiben, sich in Alkohol lösen und schließlich durchsichtig sein. Rizinusöl wurde als einigermaßen geeignet erkannt. Doch entstanden Schwierigkeiten durch die Lichtbrechungsverhältnisse in diesem Öl, wofür

1) Im ersten Schnitt ist das Verhalten der einen sich schließenden Spalte nicht recht verständlich, da sich eine Alkoholverdünnung, um die es sich handeln könnte, im Laufe von sieben Wochen wohl auch bei den anderen Spalten bemerkbar gemacht haben würde.

die gewöhnlichen Objektive nicht berechnet sind. Da aber Ölimmersionen wegen ihrer zu starken Vergrößerung nicht benutzt werden konnten, habe ich doch Trockensysteme verwendet und Deckgläser auf die Schnitte gelegt. Allerdings sind die Konturen der Spaltöffnungen nun nicht mehr sehr scharf, die Meßfehler infolgedessen größer. Die durch die Verschiedenheiten der Lichtbrechung in den beiden Untersuchungsmedien (Rizinusöl-Alkohol) verursachten Fehler sind dagegen relativ gering. Die Spaltöffnungskonturen sind in diesen Einschlußmitteln bei den einzelnen Pflanzen verschieden deutlich, von den untersuchten am besten bei *Elatostemma*, weshalb diese Pflanze schließlich allein verwendet wurde.

Auch bei dieser Art der Messung behalten die Spalten von *Elatostemma* ihre Weiten nahezu bei. Im Mittel (aus 46 Messungen) konnte ich für die Spaltweiten im Rizinusöl 18,0, im Alkohol 16,8 Teilstriche (bei Obj. 7) feststellen, d. h. eine Weitenabnahme von 6,7 %.

## 3. Vergleichung der Spaltengrößen am lebenden Blatt und im fixierten Schnitt.

Eine zweite Möglichkeit, eventuelle Veränderungen der Spaltenaperturen im Alkohol festzustellen, bestand darin, die Spalten am lebenden, unverletzten Blatt zu messen und mit denen der fixierten Schnitte zu vergleichen. Will man die Epidermis in durchfallendem Licht mit genügender Deutlichkeit erkennen, so sind in den meisten Fällen hohe Lichtintensitäten nötig (vgl. z. B. Lloyd, 1913 und Nicolič, 1925). Helles Tageslicht genügt nur dann, wenn es sich um besonders dünne und zartwandige Blätter handelt, wie etwa die von *Impatiens parviflora* oder mitunter auch noch von *Mercurialis perennis*; doch ist es auch dann meist noch schwer, den eigentlichen Porus klar zu sehen, während die Vorderleisten gewöhnlich viel deutlicher hervortreten. Die von Stålfelt (1927 und 1928) angewandte Methode, die Objekte in Paraffinöl ohne Deckglas zu beobachten, konnte nicht in Betracht kommen, weil von der untersuchten Stelle nachher Schnitte gemacht und in Alkohol eingelegt werden sollten, Paraffinöl sich aber in Alkohol nicht löst. Als geeignet erwies sich dagegen die Oberflächenbeleuchtung mittels Vertikalilluminators, eine Methode, die bisher, soweit ich sehe, so gut wie gar nicht zur Ermittelung von Spaltweiten herangezogen

worden war. Eine kleine Zeißsche Bogenlampe diente dabei als Lichtquelle; in ca. 15 cm Abstand von der Lampe wurde der Lichtkegel durch eine Irisblende eingeengt; der Strahl traf in ungefähr derselben Entfernung das Prisma eines von der Firma Zeiß nach dem Modell von Nachet hergestellten Vertikalilluminators, durch das er auf das Objekt geworfen wurde. Bei möglichst enger Blende wird so ein kleiner, sehr heller Lichtfleck erzeugt, der durch verschiedene Einstellung des Prismas im Gesichtsfeld verschoben werden kann. Doch ist die mäßigere Helligkeit um diesen leuchtenden Fleck geeigneter, ein deutliches Bild der Blattoberfläche zu geben, weil die Konturen darin klarer hervortreten. Solche von Schattenlinien mit genügender Sicherheit zu unterscheiden, ist durch Verschiebung des Lichtflecks möglich, wodurch das Licht die Oberfläche unter wechselndem Winkel trifft, so daß auch Schatten sich dabei verschieben. Um stets die einzelnen an den Spaltöffnungen auftretenden Linien sicher identifizieren zu können, wurde an jedem neuen Objekt das Bild mit durchfallend belichteten Schnitten bei derselben Vergrößerung (Zeiß Obj. DD) verglichen.

Nach Abschluß meiner diesbezüglichen Versuche veröffentlichte Krasnosselsky-Maximow (1929) eine kurze Mitteilung, in der sie auch über die Benutzung eines Vertikalilluminators zu Spaltenbeobachtungen berichtet. Sie bediente sich dabei eines Opak-Illuminators der Firma Leitz & Reichert nach einem Modell von Kley, wobei das Licht an Stelle des bei meinem Illuminator vorhandenen Prismas durch ein Spiegelchen auf das Objekt geworfen wird.

Nicht alle Blätter sind aber für die Untersuchung mittels Vertikalilluminators geeignet. Bei der angewandten Vergrößerung kamen zunächst nur Pflanzen mit verhältnismäßig großen Stomata in Betracht. Erforderlich ist ferner, daß der ganze Spaltöffnungsapparat flach, in der Höhe der Epidermis oder auch ein wenig über diese emporgehoben, jedenfalls aber nicht eingesenkt liegt.

Das zu untersuchende Blatt wurde mittels zweier Drahtklammern auf einem Objektträger leicht befestigt, und dieser in einen Objektführer eingeklemmt, so daß das Blatt bequem um geringe Abstände verschoben werden konnte; es war wichtig, nahe beieinander liegende Spalten zu messen, damit nach der Messung ein Schnitt von möglichst genau derselben Stelle genommen werden konnte. Darauf mußte aus folgenden Gründen Wert gelegt werden. Mitunter sind die Spalten an verschiedenen

Blattstellen verschieden weit geöffnet. Außerdem kann unter dem Einfluß des starken Lichtes und der damit verbundenen Wärme und Trockenheit eine Veränderung des Spaltenzustandes in irgend einem Sinne auftreten — in allen beobachteten Fällen bestand sie in einer Schließbewegung —; daher vermied ich solche schnell reagierende Pflanzen. Um festzustellen, ob die Spaltweiten wenigstens während der Zeit der Messung konstant blieben, stellte ich die Weite in Zeitabständen von ca. 5 Minuten bei ein und derselben Spalte fest. Das bei den einzelnen Versuchspflanzen wechselnde Verhalten gegenüber dieser Belichtungsmethode sei hier kurz zusammengefaßt. Bei *Elatostemma* begann unter dem Vertikalilluminator morgens erst nach 20 Minuten eine merkliche Verengerung; am Nachmittag setzte eine solche dagegen oft schon nach 5 Minuten ein, wohl infolge einer bereits vorhandenen Schließtendenz. Nach dieser Erfahrung führte ich die Messungen auch bei anderen Pflanzen nur morgens aus; während der dazu benötigten Zeit von 10 Minuten kamen bei *Convallaria* und *Mercurialis perennis* keine Schließbewegungen zustande, wohl aber bei den Spalten von *Anagallis*, die meist nur 7—8 Minuten unverändert blieben. Deshalb verschaffte ich mir bei dieser Pflanze schnell einen Überblick über die Spaltweiten, um dann nur vier bis fünf solche Spalten zu messen, die dem Durchschnitt ziemlich nahe kamen. In allen anderen Fällen wurde dagegen ein Mittelwert aus zehn Öffnungen bestimmt.

Ein Mangel dieser Methode liegt darin, daß es mit ihr nicht möglich ist, das Schicksal einer bestimmten Spalte zu verfolgen; die Mittelbildung aus mehreren Werten kann immer nur mehr oder weniger angenäherte Genauigkeit beanspruchen, besonders da die Weite der Stomata auch in demselben Blatt, ja schon in demselben Gesichtsfeld ganz beträchtlich schwankt.

Diese Mittelwerte liegen der Tabelle 6 zugrunde. Bei der Berechnung der Spaltweiten wurden alle geschlossenen Spalten mit berücksichtigt. Für die Feststellung der mittleren Längen wurden die geschlossenen Spalten selbstverständlich außer acht gelassen.

Die Werte bestätigen mit einer nicht im entferntesten erwarteten Genauigkeit die oben auf andere Weise erzielten Ergebnisse. Auch hier lassen sich also die drei Typen, von denen je ein Vertreter gewählt worden war, wiedererkennen. Bei *Elatostemma* stimmen die aus den Beobachtungen an 25 Blättern be-

rechneten Mittelwerte für die Spaltgrößen am lebenden Blatt und im Alkoholschnitt fast genau überein. Dasselbe gilt für *Anagallis*, jedoch mit der Einschränkung, daß hier die engeren Spalten im Alkohol sich anscheinend etwas öffnen, die weiteren dagegen sich etwas schließen, eine Art des Ausgleichs, der bei *Elatostemma* nicht vorhanden ist. Vielleicht kann damit die frühere Beobachtung in Einklang gebracht werden, daß bei der Übertragung aus dem Wasser in den Alkohol fast geschlossene Spalten sich ein wenig öffnen. Bei *Convallaria* tritt im Alkohol dasselbe Öffnen, wie oben beschrieben, ein. *Mercurialis perennis* zeigt freilich im Alkohol wieder eine Verengerung der Spalten, doch bleibt die Länge konstant. Die Schrumpfung, die an den zuvor unter Wasser gemessenen Schnitten im Alkohol beobachtet wurde, könnte demnach eine Folge ihrer zuvorigen unnatürlichen Wassersättigung sein.

Tabelle 6.

Spaltengröße im lebenden Zustand und im fixierten Schnitt (Obj. DD).

| | Zahl der beobachteten Blätter | Mittelwerte[1]) der | | | | Weitenzunahme in % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Weite | | Länge | | |
| | | lebend | Alkohol | lebend | Alkohol | |
| *Elatostemma sessile* . . | 25 | 6,17 | 6,25 | 63,8 | 63,5 | + 1,1 |
| *Anagallis arvensis* . . . | 10 | 5,8 | 5,6 | 86,6 | 84,6 | — 3,4 |
| *Convallaria majalis* . . . | 12 | 2,8 | 3,7 | 57,3 | 57,0 | + 32,1 |
| *Mercurialis perennis* . . | 10 | 4,0 | 3,2 | 50,7 | 49,2 | — 20,0 |

Nach diesen Beobachtungen dürfte es wohl als gesichert anzusehen sein, daß die Lloydsche Methode bei vorsichtiger Anwendung für viele Pflanzen einwandfreie Resultate liefert, daß ihre Verwendbarkeit aber für jede einzelne Pflanzenart erst besonders festgestellt werden muß, da es eben auch eine nicht minder große Zahl von Pflanzen gibt, die ihre Spaltenweiten bei der Fixierung verändern.

1) Die Werte setzen sich folgendermaßen zusammen: An jedem Blatt wurden 10 Einzelmessungen ausgeführt; daraus wurde das Mittel für sämtliche Blätter berechnet (vgl. Text).

## Abschnitt III.

## Die Infiltrationsmethode.

### 1. Unstimmigkeiten innerhalb der bisher benutzten Reihen.

Die Infiltrationsmethode ist 1912 fast gleichzeitig durch Molisch und Stein zur Messung von Spaltenaperturen eingeführt worden. Beide Autoren benutzten zur Infiltration verschiedene Flüssigkeiten und stellten schließlich bekanntlich je eine Reihe von solchen auf, die verschieden gut infiltrieren, und zwar Molisch die Reihe: Xylol, Benzol und absoluten Alkohol, Stein (bezw. Stahl) dagegen die Reihe Petroläther, Petroleum und Paraffin. Um durch Infiltration noch kleine Spaltenänderungen nachweisen zu können, erweiterte M. Dietrich (1925) die kurzen Reihen zu einer zehnstufigen, die aus folgenden Flüssigkeiten und Gemischen bestand: 1. Petroläther, 2. Xylol, 3. Benzol, 4. Terpentin, 5. Petroleum, 6. Rizinusöl : Terpentin = 1 : 3, 7. Rizinusöl : Terpentin = 1 : 2, 8. Alkohol, 9. Rizinusöl : Terpentin = 2 : 1, 10. Paraffinöl. Die theoretischen Grundlagen der Infiltrationsmethode wurden von Ursprung (1925) behandelt; nach ihm kommen für das Eindringen von Flüssigkeiten in die Interzellularen vor allem drei Faktoren in Betracht: ihre Oberflächenspannung, ihre innere Reibung und ihre Benetzbarkeit.

In orientierenden Versuchen habe ich zunächst die von Dietrich aufgestellte Reihe an einigen beliebigen Pflanzen benutzt. Doch gleich die ersten derartigen Proben ergaben Abweichungen von der für die Reihe angegebenen Folge. Das war an und für sich durchaus nicht auffallend, schon deshalb nicht, weil keinerlei Garantie dafür vorhanden war, daß es sich wirklich um genau ebenso zusammengesetzte Flüssigkeiten wie in den Versuchen Dietrichs handelte: Petroleum kann sehr verschieden zusammengesetzt sein, auch das käufliche Terpentin enthält oft allerhand Beimischungen, und über den Alkohol fehlen bei Dietrich nähere Angaben (absoluter Alkohol kann wegen seiner Stellung in der Reihe nicht gemeint sein!); seine Wirkungsweise ist aber sehr stark von der Konzentration abhängig, wie man aus folgender kurzer Zusammenstellung der bei ein und denselben Objekten gleichzeitig ausgeführten entsprechenden Infiltrationsversuche entnehmen kann (vgl. Tab. 7).

Tabelle 7.

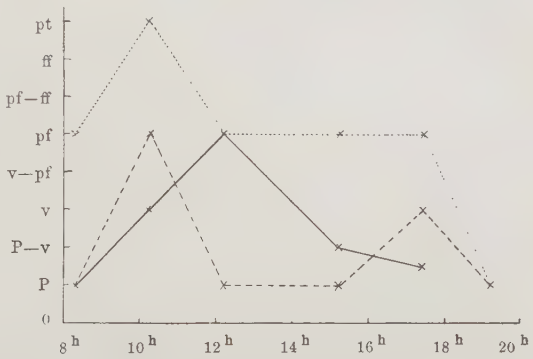
| | Alkohol | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 98 % | 95 % | 90 % | 85 % | 80 % |
| *Rosa canina* . . . . | zahlreiche Punkte | weniger Punkte | zerstreute Punkte | vereinzelte Punkte | — |
| *Verbascum thapsiforme* . | flächenhafte Infiltration | zahlreiche Punkte | zerstreute Punkte | — | — |
| *Impatiens parviflora* . | zahlreiche Punkte | zerstreute Punkte | zerstreute Punkte | — | — |
| *Syringa vulgaris* . . . | flächenhafte Infiltration | zerstreute Punkte | — | — | — |

Diesem Übelstande wäre leicht durch eine Umgruppierung der Flüssigkeiten in der Reihe abzuhelfen gewesen, wenn sich bei allen Versuchspflanzen nur immer wieder dieselbe Reihenfolge ergeben hätte; doch das war durchaus nicht der Fall, wie Tabelle 8 zeigt, die eine Auswahl aus den voneinander abweichenden Ergebnissen enthält. Die Abkürzungen geben den Grad der Infiltration in folgender Weise an: gt (gut) = Infiltration erfolgt sofort, ff (flächenförmig) = zuerst werden nur zusammenhängende größere Bezirke infiltriert, pf (punktförmig) = die Flüssigkeit dringt von zahlreichen mehr oder minder großen Punkten aus ein, v (vereinzelt) = die Punkte liegen zerstreut, P (Punkte) = es sind nur noch ganz wenige, ca. ein bis drei infiltrierte Stellen auf einer größeren Fläche vorhanden. Ein Zusammenfließen kann freilich in fast allen Fällen erfolgen. Schließlich kann auch eine undeutliche, sehr geringe Infiltration großer Teile der Blattfläche (besonders längs feiner Adern) eintreten, ohne auf deutliche Punkte beschränkt zu sein; sie ist mit schw. (schwach) angegeben. Aus der Tabelle geht hervor, daß nur bei wenigen Flüssigkeiten die Stellung in der Dietrichschen Reihe für alle Versuchsobjekte wirklich gesichert erscheint. Da die von Molisch (1912) einerseits und von Stahl u. Stein (1912) andererseits zusammengestellten Reihen in der von mir verwendeten enthalten sind, erübrigt sich ein weiteres Eingehen auf sie. Nach meiner Tabelle 8 scheint aber die Steinsche Reihe zuverlässiger als die von Molisch, der gegenüber sich die einzelnen Versuchsobjekte recht verschieden verhalten. Der mit *Sauromatum* angeführte Fall ist eine Ausnahme, die ich sonst nur selten wieder beobachtet habe.

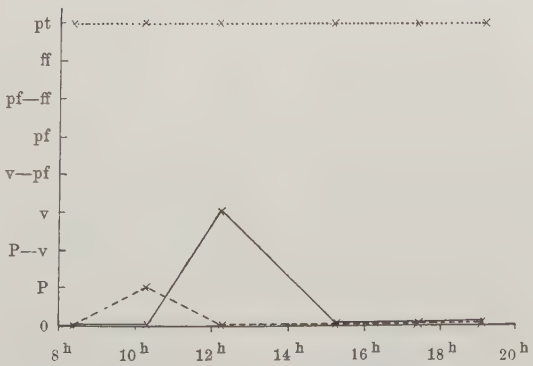
## Tabelle 8.

Unstimmigkeiten bei Anwendung der Dietrichschen Infiltrationsreihe.

| | Petroläther | Xylol | Benzol | Terpentin | Petroleum | Terpentin : Rizinusöl = 3 : 1 | Terpentin : Rizinusöl = 2 : 1 | Alkohol (98 %) | Terpentin : Rizinusöl = 1 : 2 | Paraffinöl |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| *Sauromatum guttatum* . . | schw. | schw. | schw. | **ff—pf** | **pf** | P | — | **v** | — | — |
| *Tinantia fugax* . . . . | ff | — | schw. | schw. | v | — | — | — | — | — |
| *Dahlia* spec. . . . . | gt | — | — | ff | ff—pf | P | — | **pf** | — | — |
| *Zantedeschia albo-maculata* | gt | P | — | P | P | P | — | — | — | — |
| *Corylus avellana* . . . . | ff | pf | **v** | pf | v | — | — | — | — | — |
| *Polygonum acetosa* . . . | gt | ff | **ff—pf** | ff | ff | v | v | **pf** | P | — |
| *Acanthus longifolius* . . . | ff | ff | ff | ff | ff | pf | pf | pf | P | **v** |




*a)* alte Blätter (Unterseite).




*b)* junge Blätter (Unterseite).

Fig. 2.

*Asarum europaeum.*

mit · · · · Petroläther,
„ ------- Xylol,
„ —— Alkohol infiltriert.

Die Ordinatenwerte geben den Infiltrationsgrad an (vgl. S. 804 und S. 806).

Wenn nun auch eine solche Reihe keine Allgemeingültigkeit hat, so bliebe doch noch die Möglichkeit, sie für jede Pflanzenart umzustellen; doch sogar bei ein und derselben Art wechselt aus zunächst nicht ersichtlichen Gründen die Reihenfolge, wie sich bei manchen Versuchen zeigte, die gleichzeitig mit Alkohol (96%), Xylol und Petroläther angestellt worden sind. Um dabei individuelle Unterschiede in der Reaktionsweise der Blätter auszuschalten, wurden die Versuche jedesmal bei ca. zehn Blättern und an jedem Blatt mit allen drei Flüssigkeiten an einigermaßen entsprechenden, gleich reagierenden Stellen ausgeführt. Fig. 2*a* gibt einen ziemlich deutlichen Fall solcher Widersprüche wieder. Zum Zwecke der Darstellung sind hier die oben angegebenen Schätzungsgrade in eine Skala eingeordnet, die noch durch die Zwischenstufen P—v, v—pf, pf—ff erweitert ist. Seltsam ist auch das in Fig. 2*b* wiedergegebene Verhalten der jungen *Asarum*-Blätter im Vergleich zu den gleichzeitig untersuchten zweijährigen: Petroläther dringt in jene stets sofort ein, also durchweg besser als in die alten Blätter, während Xylol und Alkohol jene nur in je einem Falle infiltrierten, die älteren dagegen zu allen Versuchszeiten, wenn auch schwach, so doch immerhin besser als die jüngeren.

Manchmal konnte auch zu gleicher Zeit bei Blättern mehrerer Individuen ein und derselben Pflanzenart, die unter verschiedenen Außenbedingungen wuchsen, ein sich widersprechendes Verhalten der Flüssigkeiten beobachtet werden. Ein Beispiel dafür ist in Tabelle 9 angeführt. Eine mögliche, wenn auch unwahrscheinliche Erklärung für solche Unstimmigkeiten könnte darin gesehen werden, daß eine bestimmte Flüssigkeit bereits infiltriert, wenn nur wenige Spalten die zu ihrem Eindringen erforderliche Mindestweite haben, eine andere dagegen erst, wenn bei der Mehrzahl aller Spalten diese Mindestweite erreicht ist.

Tabelle 9.

*Ranunculus Ficaria.*

| Individuum | I | II | III |
|---|---|---|---|
| Xylol . . . . . | ff | pf | v |
| Terpentin . . . . | pf | pf | pf |
| Alkohol . . . . . | v | pf | v |

Solche Widersprüche drängen zu der Forderung, womöglich eine Infiltrationsreihe so zusammenzustellen, daß sie bei allen Versuchspflanzen übereinstimmende, also eindeutige Ergebnisse liefert. Das ließ sich vielleicht durch Mischung nur zweier Flüssigkeiten erreichen, und zwar solcher, die sich in ihrem Infiltrationsvermögen möglichst verschieden verhalten. Zuerst habe ich — wie schon im I. Abschnitt erwähnt — zu diesem Zwecke verschiedenprozentigen Äthylalkohol benutzt; da es sich aber als notwendig erwies, dieser Reihe durch Petroläther und dessen Mischungen mit absolutem Alkohol noch besser infiltrierende Glieder hinzuzufügen, konnte mein Ziel auf diese Weise nicht erreicht werden.

Besser geeignet waren schon Petroläther und Paraffin und deren Gemische. Ein Mangel dieser Reihe bestand aber in der großen Flüchtigkeit des Petroläthers, die zu sehr häufiger Erneuerung der Gemische zwang. Außerdem dringt Paraffin häufig gut, manchmal sogar noch recht gut ein, so daß die Reihe alsdann nach oben hin nicht begrenzt ist. Oft infiltriert es erst nach geraumer Zeit, alsdann aber manchmal an vielen Stellen; dieses Verhalten ist wohl eine Folge der großen Zähigkeit des Paraffins. Das gleiche kommt auch bei den bis zu ca. 7 Teilen Paraffin enthaltenden Petroläther-Paraffingemischen vor. Um der Reihe einen Abschluß zu geben, zog ich daher vor, als die eine Flüssigkeit eine solche zu benutzen, die überhaupt nicht mehr infiltriert. Wasser kam nicht in Frage, weil die wenigen leichtflüssigen, aber dabei nicht allzu flüchtigen Substanzen, die darin löslich sind, mit Petroläther verglichen auch noch relativ schlecht infiltrieren. Den Spalten gegenüber ähnlich wie Wasser verhält sich Äthylenglykol: in keinem Fall konnte ich, auch bei zweifellos weit offenen Spalten, in irgend eine Pflanze sein Eindringen beobachten. Mischbar ist dieser zweiwertige Alkohol u. a. mit Isobutylalkohol, der als anderes Endglied der Reihe geeignet erschien; denn letzterer infiltriert relativ leicht; nur in ganz wenigen Fällen (z. B. bei *Hedera helix*) drang Petroläther noch ein, wenn nach der ausbleibenden Infiltration mit Isobutylalkohol geschlossene Spalten vermutet wurden. Freilich sind die Infiltrationsbilder für die beiden letzten Flüssigkeiten an der Grenze der Infiltrierbarkeit vollkommen verschieden: nach Infiltration mit Petroläther erscheint das Blatt alsdann nur noch schwach fleckig; ja oft sind nur seine feinen Adern dunkler, so daß es dann manchmal schwer ist, mit Sicherheit zu erkennen, ob die Flüssigkeit überhaupt noch eindrang. Bei

Infiltration mit Isobutylalkohol nimmt dagegen mit zunehmendem Spaltenschluß nur die Zahl der Infiltrationspunkte ab, oft bis zu einem einzigen auf einer großen Blattfläche. Ein Vorzug dieser Flüssigkeit ist, daß aber auch dann noch die infiltrierte Stelle mit Deutlichkeit zu erkennen ist, eine Folge ihrer geringen Flüchtigkeit. Mit der langsameren Verdunstung hängt ein weiterer Vorteil zusammen: die Gemische bleiben erheblich länger konstant.

## 2. Die Infiltrationsreihe Isobutylalkohol-Glykol.

Die Mischungen von Glykol und Isobutylalkohol wurden, ebenso wie oben für Petroläther und Paraffin angegeben, im Verhältnis 1 : 9, 2 : 8, 3 : 7 usw. hergestellt. Zunächst konnte ich mich über die Brauchbarkeit dieser Reihe durch Versuche an einer Anzahl von Pflanzen orientieren. Dabei ergab sich für mehr als 30 Pflanzenarten des botanischen Gartens, die zu verschiedenen Tageszeiten und bei wechselnder Witterung untersucht wurden, als wichtige Tatsache, daß die Folge der Gemische in keinem Falle wechselte: Wenn ein Gemisch nicht mehr eindrang, so taten es auch alle folgenden nicht mehr, und kein höheres Glied der Reihe infiltrierte besser als ein vorhergehendes. Später fand sich aber doch eine, freilich nicht sehr bedeutende, Ausnahme: Bei *Isatis tinctoria* drang nämlich mehrere Male in fast geschlossene Spalten Isobutylalkohol nicht mehr ein, während seine 90proz. Mischung mit Glykol noch infiltrierte. Ein analoges Verhalten hatte ich früher auch mit den Alkohol-Petroläthergemischen beobachten können: hier erfolgte die Infiltration mit Alkohol : Petroläther = 2 : 1 manchmal besser als mit Alkohol : Petroläther = 1 : 2!

Das Infiltrationsbild ist bei den verschiedenen Pflanzenarten sehr mannigfaltig, aber bei derselben Art für alle noch eindringenden Gemische, wenn auch in schwächer werdendem Maße, das gleiche. Diese Abnahme von Zahl und Größe der infiltrierten Stellen kann langsam und stetig sein; manchmal aber ist das Bild bei einer Reihe aufeinander folgender Gemische gleich, worauf alsdann die Infiltration ziemlich plötzlich mit dem nächsten aufhört; vor allem sind es die unteren Glieder der Reihe, die oft in gleicher Weise infiltrieren.

Da nach diesen Beobachtungen die Glykol-Isobutylalkoholreihe sich für Infiltrationsversuche überraschend gut zu eignen schien, hielt ich es zunächst für erforderlich, einige ihrer physikalischen

Konstanten kennen zu lernen. Wie schon erwähnt, kommt es beim Eindringen der Flüssigkeiten durch die Spaltöffnungen vor allem auf ihre Kapillarität, Viskosität und Benetzbarkeit an. Ich hielt es daher für besonders wichtig, zu ermitteln, ob diese physikalischen Konstanten innerhalb der Reihe kontinuierlich ab- oder zunehmen, oder ob ein oder mehrere Maxima bezw. Minima vorkommen.

Die Oberflächenspannung habe ich nach der Tropfenzählmethode mittels eines Traubeschen Stalagmometers festgestellt. Danach ergaben sich bei 20—22° C folgende Werte (die Mischungen sind in Prozenten des Isobutylalkohols angegeben): für 100% 22,6 — 90% 22,9 — 80% 23,3 — 70% 23,8 — 60% 24,4 — 50% 25,0 — 40% 25,8 — 30% 27,3 — 20% 29,7 — 10% 32,9 — 0% 44,1 $\frac{\text{Dyn}}{\text{cm}}$ [1]) (vgl. auch Fig. 3). Die Kapillaritätskonstante wächst

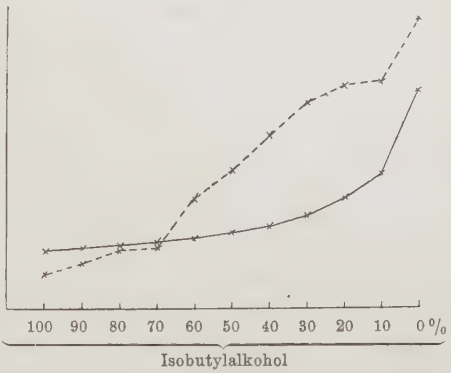



Fig. 3.
Kapillaritätskonstante (——) und Viskosität (------) der Isobutylalkohol-Glykol-Reihe.

(Für die Ordinate vgl. die im Text angegebenen Werte.)

demnach kontinuierlich; doch ist der Anstieg zunächst langsam, erst in der zweiten Hälfte der Reihe stärker, um erst zum Glykol selbst beträchtlich in die Höhe zu schnellen.

Die innere Reibung wurde mittels eines Viskosimeters bestimmt. Bei 17,5° C stellte ich die folgenden Werte fest: für 100% Isobutylalkohol 0,038, für 90% 0,044 — 80% 0,051 — 70% 0,052 — 60% 0,078 — 50% 0,094 — 40% 0,112 — 30% 0,129 — 20% 0,139 — 10% 0,142 — 0% 0,174. Wie aus den angegebenen Zahlen und aus der zugehörigen Kurve (Fig. 3) zu erkennen ist, steigen auch die Werte für die Viskosität

1) Die angegebenen absoluten Werte wurden nach der Formel berechnet, die in einer dem Stalagmometer beigegebenen Beschreibung angeführt ist.

der einzelnen Reihenglieder zwar ständig, doch sehr ungleichmäßig schnell an.

Über die Benetzbarkeit verschiedener Substanzen durch die einzelnen Flüssigkeiten der Reihe suchte ich dadurch eine Orientierung zu erlangen, daß ich das Verhalten darauf aufgesetzter Tropfen miteinander verglich. Dabei wurde der Randwinkel der Tropfen mit ihrer Unterlage geschätzt. Eine derartige Schätzung ist freilich nur sehr roh möglich; doch genügte diese Methode für den vorliegenden Zweck, da es sich stets nur um Vergleichungen verschiedener Tropfen miteinander handelte. Der Kürze halber sollen im folgenden die einzelnen Mischungen wieder mit Ziffern bezeichnet werden, mit 1 Isobutylalkohol, mit 2 Isobutylalkohol : Glykol = 9 : 1 usw. bis 11 = Glykol.

Bei Blättern kann die Oberfläche stofflich sehr verschieden sein. Häufig kommen besondere Überzüge vor (vgl. hierzu auch Ursprung, 1925); vor allem treten Wachs-, Wasser- und Lufthäutchen auf. Zunächst benutzte ich anorganische Stoffe und zwar als ersten eine gewöhnliche Glasplatte. Für eine solche darf man annehmen, daß sie ständig mit einem sehr feinen Wasserhäutchen überzogen ist, daß also Verhältnisse vorliegen, die auch bei vielen Pflanzen anzutreffen sind. Das Ergebnis war überraschend: es zeigte sich nämlich, daß zwar Glykol, wie zu erwarten war, am wenigsten, wenn auch nicht schlecht benetzte, und daß die Benetzbarkeit dann bis zu Gemisch 2 ständig zunahm, derart, daß bei 2 die Tropfen auf der Glasplatte sofort vollständig zerflossen, daß aber dann 1 wieder ganz erheblich — auch bei einer rohen Schätzung deutlich sichtbar — weniger benetzte als eine Reihe der vorangehenden Gemische. Es sei hier gleich vorweggenommen, daß sich dieses seltsame Verhalten sonst nie mehr wiederholte, daß vielmehr alle anderen Stoffe gegenüber 1 die beste Benetzbarkeit zeigten. Jener Befund dürfte vielleicht die eigenartigen Infiltrationsverhältnisse bei *Isatis* erklären, deren Blätter, wie oben angegeben, wohl noch von 2, aber nicht mehr von 1 infiltriert wurden.

Die Benetzbarkeitsversuche wurden nun mit anderen Stoffen in ähnlicher Weise fortgesetzt: ich überzog erwärmte Platten mit Vaseline, Paraffinum solidum und Bienenwachs, indem ich diese möglichst gleichmäßig aufstrich. Die Randwinkel der Tropfen, die bei 11 am steilsten waren, nahmen auf solchen Platten bis 1 stetig, ohne irgend einen Sprung, ab; besonders schön waren diese Ab-

stufungen gegenüber der mit Paraffin überzogenen Glasplatte zu sehen, worauf der Randwinkel des Glykols am größten, der des Isobutylalkohols dagegen ungefähr derselbe wie bei Vaseline und Wachs war, so daß also gegenüber dem Paraffin die Unterschiede zwischen den Randwinkeln bei weitem am größten waren.

Führt man derartige Versuche mit solchen spaltenlosen Blattoberseiten aus, die einen starken Wachsüberzug besitzen, so zeigt sich eine ähnliche Zunahme der Benetzbarkeit von 11—1; doch fand ich insofern einen Unterschied gegenüber den Platten, als jetzt die niederen Glieder sämtlich sehr gut benetzten, bei *Sempervivum giganteum* schon von 6 an bis 1; ja bei *Polypodium aureum* benetzten sogar die Tropfen von 9 an bis 1 vollkommen. Danach darf man vielleicht annehmen, daß die Benetzbarkeit der Blattoberseite wenigstens für diese Flüssigkeiten durch Wachs erhöht, statt herabgesetzt wird. Bei *Polypodium aureum* spielt auch noch eine Rolle die Oberflächenrauhigkeit der wachsüberzogenen Epidermis; dieser adhäriert infolgedessen ein Lufthäutchen, das unter einem Tropfen von 11 noch als reflektierender Spiegel sichtbar bleibt, unter einem solchen von 10 aber schon verschwindet. Ähnlich ist es auch bei der mit einem dicken Wachsüberzug versehenen, spaltenführenden Unterseite junger *Eucalyptus*-Blätter, von der 11 als gar nicht benetzender Tropfen abrollt; 10 bildet noch einen Randwinkel von ungefähr 90 °; erst bei 9 verschwindet die reflektierende Luft, wonach die Benetzung immer stärker wird, bis die Tropfen vollkommen auseinander fließen; 2 und 1 schließlich infiltrierten. Die papillöse, aber wachsfreie Blattoberseite der Lotospflanzen wird von Glykol ebenfalls gar nicht benetzt, dieses läuft vielmehr fast wie Wasser ab; doch tritt hier schon von 7 an vollkommene Benetzung ein. Im ganzen scheint Glykol bei Ausbildung von Lufthäuten gar nicht oder sehr schlecht zu benetzen; Isobutylalkohol und mit ihm die meisten der Mischungen scheinen dagegen die Luft leicht zu verdrängen. Versuche mit künstlich erzeugten Lufthäutchen gaben darüber leider keinen Aufschluß: während sowohl auf lockerem, wie auf fest verbackenem Lehmstaub, der bei 110 ° getrocknet worden war, Wassertropfen als Kugeln stehen blieben und, ohne zu benetzen, über die Oberfläche rollten, sickerten alle Flüssigkeiten der Reihe, auch das Glykol, sofort ein; genau so war es auch auf festgestampftem Talkpulver und ebensolcher Knochenkohle. Bei Blättern mit glatter, wachsloser Oberfläche *(Parthenocissus tricuspidata, Lirio-*

*dendron, Catalpa)* nahm die Benetzung stets von dem verschieden stark benetzenden Glykol bis zur vollkommenen Benetzung durch eines der niedrigeren Glieder zu.

Es zeigte sich also, daß die physikalischen Konstanten der Reihenglieder kontinuierlich abgestuft sind, daß aber diese Abstufungen im einzelnen durchaus nicht gleich groß sind, da die mehr Isobutyl enthaltenden Flüssigkeiten untereinander größere Ähnlichkeit zeigen als die höheren Glieder der Reihe untereinander. Wenn demnach bei irgendwelchen Pflanzen der Infiltrationsgrad von 4 auf 3 zurückgeht, so ist der Unterschied in den Spaltenweiten meist ungleich geringer als bei der Abnahme von 6 zu 5 oder sogar etwa von 9 zu 8. Eine Infiltration mit 9 wurde nur in ganz wenigen Fällen, mit 10 und 11 jedoch nie beobachtet. Erfolgt aber die Infiltration bei einer Pflanzenart zu allen Zeiten ausschließlich durch die unteren Reihenglieder, so dürfte doch wohl einem geringfügigen Unterschied in der Infiltration (wie z. B. dem Anstieg von Infiltrationsgrad 3 auf 4) eine erheblichere Änderung der Spaltenweiten zugrunde liegen.

## 3. Einige eingehendere Versuche mit der Isobutylalkohol-Glykolreihe.

Nach diesen Feststellungen schien die Hoffnung berechtigt, daß man mit dieser Reihe gut werde arbeiten können. Ich habe deshalb ein paar noch eingehendere Versuche bei einigen Arten damit ausgeführt, von denen die Ergebnisse hier mitgeteilt werden sollen, da sie für die Bewertung der Infiltrationsmethode wichtig sind. Doch sei von vornherein betont, daß es mir dabei nur darauf ankam, die Brauchbarkeit der Reihe praktisch noch weiter zu erproben.

Von Interesse ist zunächst die dabei wie übrigens auch schon früher von mir wiederholt gemachte Beobachtung, daß nicht nur, wie lange bekannt, Alter und Insertion der Blätter von Einfluß auf den Infiltrationserfolg sind, sondern auch ihre Größe und ihre mehr oder weniger kräftige Ausbildung, so daß kleinere und schwächlichere Blätter stets zwar eine gleichmäßigere, aber meist geringere Infiltration zeigen als große und kräftige. Als Beispiel sei *Atropa belladonna* angeführt, bei der meist die Infiltration von den jüngeren zu den wenig älteren Blättern zunimmt, um zu den ältesten wieder abzunehmen; sie folgt hierbei im wesentlichen der Blattgröße. Für

solche Reihenfolge der einzelnen Blätter ergaben sich z. B. bei einem gleichmäßig beschatteten Zweigstück die Werte 6, 7, 7, **3**, 7, 7, 6, 5, 4, 4 oder 4, 6, 7, **4**, 6, 6, 6 (vgl. für diese Bezeichnungen das auf S. 810 Gesagte), wobei wieder jede Zahl die erste (von 1 ab gerechnet) nicht mehr infiltrierende Flüssigkeit angibt; die fett gedruckten Infiltrationswerte kommen den besonders kleinen Blättern zu.

Ähnlich verhielten sich verschieden große Blätter von *Syringa vulgaris*, die unter gleichen Lichtverhältnissen sich befanden und an den Zweigspitzen benachbarter Zweige ausgewählt wurden: die großen Blätter ließen sich auf den Unterseiten erst mit 8, auf den Oberseiten schon mit 5 nicht mehr infiltrieren, während bei erheblich kleineren Blättern auf den Unterseiten 6 und auf den Oberseiten bereits 4 nicht mehr eindrangen. Diese Erscheinung, die sich bei zahlreichen Pflanzenarten wiederholt, kann vielleicht als eine Folge der beim größeren Blatt einer Art auch größeren Zellelemente angesehen werden, wodurch im kräftigeren Blatt trotz der gleichen relativen Öffnungsweite der Spalten doch durchschnittlich absolut größere Aperturen vorhanden sein müssen.

Ferner habe ich mit meiner Isobutylalkohol-Glykolreihe im September 1928 auch über das Verhalten der ober- und unterseitigen Stomata von *Syringa vulgaris* einige Versuche ausgeführt. Als Versuchsobjekte dienten zwei an verschiedenen Stellen des botanischen Gartens wachsende Sträucher, von denen der eine bedeutend schattiger und feuchter stand, ein Unterschied, der um so einflußreicher sein mußte, weil eine lange, regenlose Schönwetterperiode vorausgegangen war. Die Folge der Trockenheit machte sich bei dem besonnteren Strauch dadurch bemerkbar, daß seine großen Blätter an der der Sonne am meisten ausgesetzten Seite (I der Tab. 10) tagsüber schlaff herabhingen und erst nachts ihre Turgeszenz wiedererlangten; im übrigen behielten sie aber ein vollkommen gesundes, frischgrünes Aussehen. Auf der weniger besonnten W- und NW-Seite (II) welkten die Blätter dieses Strauches dagegen auch während des Tages nicht, ebensowenig wie die im allgemeinen bedeutend kleineren Blätter des schattigeren Strauches (IV); dieser begann dagegen zuerst zu vergilben und die Blätter abzuwerfen, etwa 14 Tage vor dem vom helleren Standort. Von dem besonnten Strauch habe ich auch Blätter eines sehr tief am Stamm stehenden Zweiges geprüft, die anscheinend nicht unter Wassermangel litten, aber zu allen Tageszeiten nur

sehr schwaches Licht erhielten (III). Die in Tabelle 10 angeführten Zahlen sind aus den Infiltrationswerten zahlreicher, unter gleichen Verhältnissen stehender Blätter gewonnen und geben einen Mittelwert an, um den im übrigen eine meist nur geringe oder sogar gar keine Schwankung beobachtet werden konnte. Kommen dagegen zwei Werte gleich häufig vor, so sind sie beide (z. B. 8/7) angegeben.

## Tabelle 10.

Spaltenbewegungen bei *Syringa vulgaris*.

| Datum | Wetter | Zeit | I | | II | | III | | IV | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | U | O | U | O | U | O | U | O |
| 19. IX. | Klar, morgens kalt. — Lange Schönwetterperiode vorausgegangen | $10^{44}$ | 6 | 3 | 8/7 | 3 | | | | |
| 21. IX. | Morgens klar, kühl ($9^{30}$ h 10 °C), von Mittag an trüb | $10^{35}$ | 6 | 2 | 8 | 2 | 6 | 2 | 7 | 5 |
| | | $16^{50}$ | 2 | 1 | 4 | 1 | 2 | 1 | 8 | 5 |
| 22.—24. IX. | Kühl und trüb, aber fast regenlos | | | | | | | | | |
| 25. IX. | Morgens leicht bewölkt, kühl, | $10^{45}$ | 5 | 2 | 7 | 2 | 5 | 2 | 8 | 5 |
| | von Mittag an trüb und wärmer | $16^{45}$ | 3 | 2/1 | 4 | 2 | 2 | 1 | 8 | 5 |
| 26. IX. | Nachts vorher Regen (sehr wenig). Klärt sich auf. | $11^{40}$ | 6 | 2 | 8/7 | 3 | 6 | 2 | 9/8 | 5 |
| 27. IX. | Klar (morgens neblig) | $17^{36}$ | 2/1 | 1 | 3 | 1 | 1 | 1 | 9/8 | 3 |
| 28. IX. | Bedeckt, kühl | $11^{32}$ | 5 | 2 | 7 | 3 | 4 | 2 | 9 | 4 |
| | Vom 28. IX. mittags bis 30. IX. morgens Dauerregen | | | | | | | | | |
| 1. X. | Wechselnd bewölkt, sehr windig | $9^{32}$ | 7/6 | 5/4 | 7/6 | 3 | 6 | 2 | 9 | 4/3 |
| | | $11^{53}$ | 7/6 | 4 | 7 | 4 | 6 | 2 | 9 | 4 |
| | | $18^{02}$ | 5 | 1 | 5/4 | 1 | 4/3 | 2/1 | 8 | 4 |
| 2. X. | Bedeckt, von 15 h an Regenfälle, kalt, windig | $8^{40}$ | 6/5 | 4/3 | 6 | 3 | 5 | 2 | 8 | 3 |
| | | $11^{00}$ | 6/5 | 4 | 7 | 4/3 | 6 | 3 | 9 | 4 |
| | | $12^{02}$ | 6 | 4 | 7 | 5 | 6 | 3 | 9 | 4 |
| | | $17^{04}$ | 6 | 5 | 7 | 6/5 | | | 9/8 | 5 |
| | | $18^{08}$ | 5 | 4 | 5 | 3 | | | 8 | 4/3 |

I = Blätter der Sonnenseite
II = „ „ Schattenseite
III = „ besonders gering belichteter Zweige
IV = „ eines mehr beschatteten Strauches.

} eines unbeschatteten Strauches.

Vergleicht man die Werte miteinander, so fällt zunächst auf, daß während der ganzen Trockenperiode, die bis zum 28. September anhielt, die Spalten des besonnten, also auch der größeren Trockenheit ausgesetzten Strauches durchweg stärker geschlossen sind als die des beschatteten; ja die oberseitigen Spalten an ersterem sind fast gar nicht mehr geöffnet. Ähnlich liegen die Verhältnisse auch bei den verschieden besonnten und damit verschiedener relativer Feuchtigkeit ausgesetzten Seiten jenes Strauches (I und II); doch unterscheiden sich hier meist nur die Spalten der Blattunterseiten voneinander, während sie auf den Blattoberseiten an beiden Partien des Strauches kaum mehr geöffnet sind, ein Zeichen dafür, daß die oberseitigen Spalten auch an dem schattigeren Teile des Strauches bereits auf die Trockenheit reagierten. Somit findet sich, daß auch bei *Syringa* gegenüber äußeren Einflüssen die Empfindlichkeit der oberseitigen Spalten stärker ist als die der unterseitigen, wie das von verschiedenen Autoren bereits an anderen Pflanzen beobachtet worden ist (vgl. u. a. Ruhland 1915, Leick 1927). Daß aber auch nach einem fast zweitägigen Dauerregen die Spalten an den Blättern der stärker belichteten Seite des Strauches nur in wenigen Fällen weiter geöffnet sind als an den Blättern der schattigeren Seite, könnte an und für sich überraschen; doch waren die beiden Beobachtungstage windig, und die Blätter der beschatteten Seite dem Winde weniger ausgesetzt als die der besonnten; dadurch konnten die genannten Verhältnisse hervorgerufen werden, da der Wind, wie besonders Johansson (1926) ausführt, einen starken Einfluß auf die Spaltenbewegungen hat. Die windgeschützten, ständig nur sehr schwaches Licht genießenden Blätter der Zweige III vom besonnten Strauch zeigten aber an den windigen Tagen eine geringere Öffnungsweite als die Blätter seiner Zweige II.

Der Einfluß der anfänglichen Trockenheit machte sich an dem besonnten Strauch ferner in einem früheren Spaltenschluß am Abend bemerkbar, was auch Weber (1923) bei Sonnenblättern von *Aesculus hippocastanum* beobachtet hat. Vergleicht man an den verschiedenen Tagen die für die Zeiten von ungefähr 17—18$^{h}$ angegebenen Öffnungswerte untereinander, so sieht man, daß die Spalten der Blattunterseiten während der Trockenperiode viel weiter geschlossen waren als nach dem starken Regen, trotzdem die jetzt früher beginnende Dämmerung einen früheren Spaltenschluß im letzteren Falle rechtfertigen würde. Auf den Blattoberseiten tritt der Spaltenschluß überhaupt früher ein; die relativ hohen Öffnungs-

werte der oberseitigen Spalten am 2. Oktober können andere, gleich zu besprechende Ursachen (Starre!) haben.

Betrachtet man nun die Werte beim zweiten beschatteten Strauch, so fällt zuerst auf, daß sie ganz allgemein höher sind als die für den besonnten Strauch; befremden müssen aber die äußerst geringen Schwankungen in den Spaltenweiten bei einer hinsichtlich ihrer Stomata sonst so besonders lichtempfindlichen Pflanze. Ein Einfluß der verschiedenen Tageshelligkeit ist nicht zu bemerken, ebensowenig ein Einfluß der Feuchtigkeit und des Wassergehalts oder ein solcher des Windes! Selbst das abendliche Schließen scheint auszubleiben. Hier ist offenbar ein Starrezustand bei weitgeöffneten Stomata eingetreten, der dem Tode des Blattes vorausgeht. Schon ungefähr zwei bis drei Tage nach dem Abbruch der wenigen Versuche begannen nämlich die Blätter zu vergilben und abzufallen. Daß es sich hier wirklich um einen Starrezustand handelt, konnte ich auch durch Verdunkelungsversuche zeigen. Dabei wurden teils ganze Blätter mit Stanniolpapier, teils nur Blattquerzonen durch Stanniolbinden 24 Stunden lang verdunkelt. Zum Vergleich mit den verdunkelten Blättern habe ich auch die gegenständigen, nicht verdunkelten geprüft. Wie Tabelle 11 lehrt, ist infolge der Verdunkelung auf den Blattunterseiten überhaupt kein, auf den Blattoberseiten vielleicht ein recht schwacher Rückgang der Spaltweiten eingetreten, während beim besonnten Strauch (vgl. 1), der seine Blätter, wie gesagt, später abwarf, dieser Rückgang meist deutlicher ist, obwohl auch hier die Verdunkelung bloß auf den Blattoberseiten, und zwar nur bei etwa der Hälfte der Blätter zu völligem Spaltenschluß führte. Jedoch verhielten sich einige wenige der ganz verdunkelten Blätter dieses Strauches völlig

Tabelle 11.

*Syringa vulgaris.* 3. X. 28. 24 Stunden. verdunkelt.

| | Zone verdunkelt | | | | ganzes Blatt verdunkelt | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | I | | IV | | I | | IV | |
| | U | O | U | O | U | O | U | O |
| Vergleichsblätter . . . . . | 7 | 3 | 9 | 5 | 7 | 3 | 9/8 | 4/5 |
| unverdunkelter Teil der Ver- | 6/7 | 3 | 9 | 4/5 | | | | |
| verdunkelter suchsblätter | 3/4 | 2/1 | 9 | 4/5 | 4/5 | 1/2 | 9/8 | 4/5 |

anders, indem nämlich genau wie bei den belichteten Blättern erst mit dem Gemisch 3 keine Infiltration mehr erfolgte; zudem drang der Isobutylalkohol ganz bedeutend intensiver in diese Blätter als in die übrigen ein. Ich glaube annehmen zu dürfen, daß dieses abweichende Verhalten lediglich durch eine Unzulänglichkeit der Methode bedingt worden ist.

Die Spalten des schattigen Strauches scheinen aber doch noch nicht völlig bewegungslos geworden zu sein: denn bei Welkungsversuchen mit abgeschnittenen Blättern ergab sich nach drei Stunden immerhin noch ein Rückgang der Infiltrierbarkeit der Blattunterseiten auf Gemisch 6, der Blattoberseiten auf 2; später wurde die Abnahme auf den Unterseiten nur wenig stärker (4), während die Spalten der Oberseiten sich schließlich ganz schlossen. In den Blättern des besonnten Strauches war dagegen bereits bei der ersten Prüfung nach drei Stunden beiderseits vollkommener Spaltenschluß erreicht worden. Während also (an dem schattigen Strauche) Lichtentzug gar keinen Einfluß mehr auf die Stomata hatte, hatte Wasserentzug doch noch einen solchen, wenn er auch nur gering war. So scheint es denn mit meiner Infiltrationsreihe zu gelingen, recht klare Einblicke in das Spiel der Spaltöffnungen bei *Syringa* zu gewinnen.

Eine andere Versuchsserie habe ich an *Isatis tinctoria* durch Beobachtungen in zweistündigen Abständen ausgeführt. In Tab. 12

Tabelle 12.

Spaltenbewegungen bei *Isatis tinctoria*.

| 25. V. Sonnig, dunstig, heiß, windstill | | | | 26. V. Sonnig, dunstig, feuchtwarm (schwül), 12—16 h Gewitterneigung, danach heiter | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Zeit | Infiltration | | Verhältnis der Rötungszeiten von U:O | Zeit | Infiltration | | Verhältnis der Rötungszeiten von U:O | verdunkelter Streifen (langfristig) | | |
| | Oberseite | Unterseite | | | Oberseite | Unterseite | | Zeit | Infiltration Oberseite | Infiltration Unterseite |
| $7^{40}$ | 4 | 7 | 1 : 1 | $7^{45}$ | 5 | 8 | 1 : 1,1 | $7^{55}$ | 5 | 8 |
| $9^{40}$ | 6 | 7 | 1 : 1 | $9^{45}$ | 5 | 8 | 1 : 1,7 | $9^{55}$ | 4 [1]) | 4 |
| $11^{45}$ | 2 | 5 | 1 : 2,2 | $11^{50}$ | 4 | 8 | 1 : 1,5 | $12^{00}$ | 2 | 2 |
| $13^{50}$ | 4 | 6 | 1 : 1,6 | $14^{25}$ | 5 | 7 | 1 : 1,4 | $14^{35}$ | 1 | 1 |
| $15^{30}$ | 5 | 7 | 1 : 2,7 | $15^{55}$ | 5 | 8 | 1 : 1,3 | $16^{05}$ | 3 | 4 |
| $17^{50}$ | 3 | 6 | 1 : 1,8 | $18^{30}$ | 4 | 4 | 1 : 1,5 | | | |
| $19^{40}$ | 4 | 5 | 1 : 2,3 | $19^{50}$ | 2 | 2 | 1 : 6 | | | |

1) 1 infiltriert nicht!

sind die Ergebnisse für zwei aufeinanderfolgende heiße Tage zusammengestellt, von denen der erste durch größere Lufttrockenheit und Wolkenlosigkeit ausgezeichnet war. Da der Boden noch feucht genug war, schien die Wasserversorgung in diesen Tagen nicht wesentlich erschwert zu sein; ein mittägliches Welken kam daher auch nicht vor. Doch schlossen sich die Spalten vorübergehend während der Mittagshitze deutlich; auch hier scheint diese Reaktion wieder auf den Blattoberseiten intensiver zu erfolgen als auf den Unterseiten. In Übereinstimmung mit der höheren Luftfeuchtigkeit war am zweiten Tage die Infiltration im allgemeinen stärker; auch zeigte sich nur eine Andeutung des mittäglichen Schließens, wohl infolge der zu dieser Zeit einsetzenden Bewölkung.

Versuche mit Verdunkelung von Blattzonen durch Stanniolstreifen ergaben sehr schnelle und starke Reaktionen sowohl der ober- wie der unterseitigen Stomata. Um so auffallender war ein davon abweichender Befund: Zahlreiche Blätter, die am 25. V. 29 nachmittags mit Stanniolstreifen umhüllt worden waren, wurden am 26. V. zusammen mit den normal belichteten infiltriert; sie stimmten mit diesen im Infiltrationsgrad ihrer unverdunkelten Teile überein. Merkwürdigerweise zeigte sich um $7^{55h}$ aber auch gar kein Unterschied zwischen den belichteten und den verdunkelten Blattzonen ein und desselben Blattes, beide wurden vielmehr ganz gleichmäßig stark infiltriert; die durch das Stanniol verdunkelte Zone war also auch nicht andeutungsweise zu erkennen, ein Fall, der sich später im Laufe des Tages nicht mehr wiederholte, wenn auch dann meist noch eine schwache Infiltration bei den verdunkelten Blattzonen möglich war; nur $14^{35h}$ waren die Spalten der verdunkelten Zonen ganz geschlossen. Diese Abweichung am Morgen vom sonstigen Verhalten während des Tages dürfte der Beachtung wert sein; deutet sie doch vielleicht auf Unterschiede in der Reaktionsweise der Spalten gegen Verdunkelung im Laufe des Tages hin oder auf jedoch nur kurze Zeit anhaltende Nachwirkungen des früheren Tagesrhythmus mit weiter Öffnung der Spalten am Morgen (bezügl. Nachwirkungen vgl. Stein, 1913).

Vereinzelte Beobachtungen an *Isatis* geben nun aber zu allerhand Bedenken gegen meine Infiltrationsmethode Anlaß. Gleichzeitig waren an *Isatis* mittels der Kobaltpapiermethode Versuche ausgeführt worden[1]), bei denen das Verhältnis der Rötungszeiten

1) Die Versuche wurden von Frl. K. Kappes angestellt, die mir dankenswerterweise ihre unveröffentlichten Protokolle zur Verfügung gestellt hat.

für die beiden Blattseiten ermittelt wurde. Da es sich hierbei eben nur um ein Verhältnis handelt, erübrigt es sich, auf Art, Herstellung und Verwendung des Papieres einzugehen. Nach Leick (1928) entspricht das Verhältnis der beiderseitigen Rötungszeiten dem Verhältnis der beiderseitigen Öffnungsareale der Spalten, so lange die Unterschiede zwischen diesen Arealen nicht zu groß werden (O : U höchstens = 1 : 3). Diese Feststellung machte Leick gerade bei *Isatis tinctoria*, und zwar wurden von ihm die Spaltenweiten mittels der Alkoholfixierungsmethode bestimmt, die bei dieser Pflanze anwendbar ist, wie aus dem II. Abschnitt meiner Ausführungen hervorging. Die Angaben Leicks konnte ich übrigens durch einige entsprechende Messungen bestätigen. Dagegen können die für ein und dieselbe Blattseite ermittelten Rötungszeiten verschiedener Blätter zur Feststellung der Spaltenweiten nicht herangezogen werden, da „selbst bei ein und demselben Objekt die zu verschiedenen Tageszeiten gewonnenen gleichartigen Rötungseffekte keineswegs auch auf einen gleichartigen Spaltenzustand und umgekehrt schließen lassen" (Leick, 1928, S. 783). Danach ist also die Kobaltpapierprobe nur geeignet, das Verhältnis der Spaltweiten von Ober- und Unterseite zu ermitteln; gerade dieses kann aber durch die Infiltrationsmethode sehr schlecht erfaßt werden, so daß die Möglichkeiten eines Vergleichs zwischen den beiden Methoden sehr beschränkt sind.

Einige Feststellungen lassen sich jedoch trotzdem machen. Sehen wir uns Tabelle 12 an, so fällt auf, daß am 25. V. um $15^{30}$ h das Verhältnis der Rötungszeiten von U : O = 1 : 2,7 sein soll bei einer Infiltration von 5 auf der Ober-, 7 auf der Unterseite; hierbei ist der Infiltrationswert auf der Unterseite gleich dem um $7^{40}$ h und $9^{40}$ h und der für die Oberseite liegt zwischen den Infiltrationswerten um $7^{40}$ h und $9^{40}$ h; nach der Kobaltpapierprobe aber verhalten sich zu diesen Tageszeiten die Öffnungsareale von U : O = 1 : 1! Ferner ist am 26. V. nach der Kobaltpapierprobe das Verhältnis von U : O um $11^{50}$ h dasselbe wie um $18^{30}$ h; zu diesen Zeiten zeigt die Oberseite ein und denselben Infiltrationsgrad (4), die Unterseite aber einen sehr verschiedenen (8 und 4)! Solche Widersprüche treten nicht nur gegenüber meiner Infiltrationsreihe hervor, sondern auch bei der Infiltration mit den von Molisch und Stahl benutzten Flüssigkeiten, so auch mit dem häufig verwandten Xylol. (Dieses ist im übrigen besser als andere Versuchsflüssigkeiten zur Infiltration geeignet, weil es noch in

ziemlich enge Spalten einzudringen vermag, dabei aber doch nicht so leicht infiltriert, daß keine deutlichen Abstufungen in der Infiltrationsstärke mehr zu erkennen wären.)

Auffallend ist bei den Versuchen an *Isatis* vom 25. und 26. V. auch der frühere abendliche Spaltenschluß an dem feuchteren zweiten Tage. Dieses Ergebnis ließe sich freilich leicht so erklären, daß am ersten Tag der mittägliche Spaltenschluß durch ein längeres Offenhalten der Spalten am Abend kompensiert wurde; doch wurde die gleiche Öffnungsweite wie am zweiten Tage auch an anderen Abenden festgestellt, und zwar selbst an einem Tage, an dem die Spaltenaperturen über Mittag deutlich zurückgegangen waren. Auch daran könnte man denken, daß der frühe Spaltenschluß am zweiten Tag der Beginn einer Transpirationseinschränkung sei, da sieben nahezu regenlose, heiße Tage voraufgegangen waren; doch ist es dann wieder merkwürdig, daß am Mittag kaum eine Spaltenverengerung festzustellen war. So glaube ich, den Grund meiner sich widersprechenden Befunde am ehesten in Mängeln der Infiltrationsmethode suchen zu sollen. Auch bei diesen Versuchen verhielt sich Xylol der Alkoholreihe entsprechend.

Außerdem trat bei den Verdunkelungsversuchen mit *Isatis* der schon oben erwähnte Fall ein, daß Isobutylalkohol nicht mehr eindrang, während Gemisch 2 der Reihe, sogar in zwei Fällen Gemisch 3, noch infiltrierte.

## 4. Vergleichung der Infiltration mit den Weiten alkoholfixierter Spalten bei ein und demselben Blatt.

Um den nach obigen Mitteilungen unbedingt erforderlichen Aufschluß über den Sicherheitsgrad der erhaltenen Infiltrationswerte zu erlangen, habe ich nunmehr die Infiltrationserfolge mit den Spaltenweiten in fixierten Schnitten verglichen. Dieses Verfahren ist freilich nur beschränkt anwendbar, da, wie ich bereits nachgewiesen habe, infolge der Alkoholfixierung bei manchen Pflanzen Änderungen der Spaltweiten vorkommen. Doch können solche, wie wir gleich sehen werden, nicht sehr stören.

Die Vergleiche führte ich auf die Weise durch, daß ich von einer Blatthälfte drei Oberflächenschnitte in Alkohol legte, während ich die andere Blatthälfte an der entsprechenden Stelle infiltrierte. Sie setzten voraus, daß sich die beiden Blatthälften in ihren Spaltenaperturen oder wenigstens in ihren Infiltrationsbildern gleich

verhielten, was aber nicht immer der Fall ist und deshalb bei jeder Pflanzenart erst geprüft werden muß. Ferner wird bei meinem Verfahren die Voraussetzung gemacht, daß durch die Verwundung die Spaltenweiten nicht verändert werden. Auch dies kommt aber bei manchen Blättern vor (z. B von *Mercurialis annua*), und zwar scheinen sich dabei, nach dem Infiltrationsbefund zu urteilen, die Spalten zu erweitern; doch ist diese Veränderung stets nur auf 1—2 cm breite, den Wundstellen benachbarte Zonen beschränkt, betrifft jedenfalls nie die andere Blatthälfte.

In jedem alkoholfixierten Schnitt wurden zehn Spalten gemessen, und die Mittel aus den 30 Messungen berechnet. Bildet man solche Mittelwerte, so darf wohl angenommen werden, daß etwaige bei der Fixierung eintretende Veränderungen der Spaltenweiten keinen großen Einfluß auf das Endergebnis haben werden, da sie sich bei allen Mittelwerten in gleicher Weise, vergrößernd oder vermindernd, auswirken müssen, also die relativen Weitenverhältnisse der Spalten, auf die es hier hauptsächlich ankommt, nicht beträchtlich verschleiern oder fälschen können. Allerdings wäre es auch möglich, daß der Infiltrationsgrad nicht so sehr von den durchschnittlichen Spaltenweiten als vielmehr von wenigen maximal offenen Poren abhängig oder daß für die Infiltration das Verhältnis von Länge zu Weite des Spaltes ausschlaggebend ist.

In Tabelle 13 sind die erhaltenen Werte zusammengestellt. Für *Syringa* ergibt sich tatsächlich wieder eine gute Übereinstimmung zwischen Infiltration und Spaltenweiten, derart, daß mit wachsendem Mittelwert der Aperturen auch der Infiltrationsgrad ansteigt, und zwar kommt bei gleichen Spaltweiten auf beiden Blattseiten die stärkere Infiltration der Unterseite zu. Durch diese Übereinstimmung ist gleichzeitig wahrscheinlich gemacht, daß die durch die Fixierung im Alkohol bei *Syringa* von mir nachgewiesene Spaltenverengerung bei einer Vergleichung der fixierten Spalten mit den Infiltrationsgraden kaum störend wirken dürfte.

Bei *Isatis*, der zweiten bei den Infiltrationsversuchen mit meiner Reihe benutzten Pflanze, liegen die Dinge freilich anders, und zwar trotzdem hier eine weitgehende Brauchbarkeit der Fixierungsmethode nach meinen früheren Beobachtungen (vgl. II. Abschnitt) vorausgesetzt werden durfte. Auffallend ist, daß an den *Isatis*-Blättern, in die Isobutylalkohol nicht mehr eindrang, sich doch noch einige offene, sogar weit offene Spalten fanden. Im übrigen gehen auf den Blattoberseiten die mit den beiden Methoden

ermittelten Werte parallel. Auch auf den Unterseiten kommt großen Mittelwerten der Spaltweiten stets ein hoher Infiltrationsgrad zu; bei kleinen Mittelwerten aber wechselt das Verhalten der Spalten: für höhere Glieder der Infiltrationsreihe sind sie bald nicht mehr, bald doch noch passierbar. Beachtet man dagegen nur die maximalen Spaltweiten, so lassen sich die Infiltrationswerte verstehen: lag starke Infiltration vor, so befanden sich zum mindesten zwischen wenig offenen und ganz geschlossenen noch einige weiter geöffnete Spalten; und diese wenigen genügten

## Tabelle 13.

Infiltrationsgrad (d. h. Nr. der Flüssigkeit, die als erste in der Reihe nicht mehr infiltrierte) und Spaltweiten (in Teilstrichen — Obj. 7) in fixierten Schnitten.

a) *Syringa vulgaris.*

| Inf. | Spaltweiten (Mittel aus 30 Messungen) | |
|---|---|---|
| | O | U |
| 1 | 0,4 | |
| 2 | 1,9 | 1,2 |
| 3 | 2,7 | 2,0 |
| 4 | 2,8 | 2,4 |
| 5 | 4,9 | |
| 6 | 5,8 | 3,8 3,9 |
| 7 | | 5,0 |

b) *Isatis tinctoria.*

| Inf. | Spaltweiten im Mittel (a) und Maximum (b) | |
|---|---|---|
| | O | U |
| 1 | a) 0,9 2,3 | 1,2 |
| | b) 9 10 | 7 |
| 4 | a) 4,8 | 3 |
| | b) 13 | 12 |
| 5 | a) 5,8 6,3 6,7 | |
| | b) 12 10 13 | |
| 6 | a) | 3,2 |
| | b) | 12 |
| 8 | a) | 2,5 8,4 10,1 |
| | b) | 15 14 18 |

c) *Anagallis arvensis* (U).

| Inf. | Spaltweiten im Mittel | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 0,6 | 0,7 | 0,7 |
| 3 | 2,7 | | | |
| 5 | 5,6 | 6,6 | 10,2 | |
| 6 | 5,7 | 9,5 | | |

d) *Vinca minor.*

| Inf. | Spaltweiten im Mittel (a) und Verhältnis von Länge : Weite (b) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 | a) | 3,9 | 7,5 | | | | |
| | b) | 5,9 | 4,3 | | | | |
| 7 | a) | 4,8 | 5,1 | 5,3 | 7,5 | 8,0 | 8,2 |
| | b) | 5,6 | 5,5 | 5,1 | 3,9 | 4,0 | 3,7 |
| | a) | 8,7 | 10,8 | 11,0 | 11,4 | 11,5 | |
| | b) | 3,3 | 3,3 | 3,2 | 3,3 | 3,2 | |
| 8 | a) | 11,1 | 12,8 | | | | |
| | b) | 3,1 | 3,0 | | | | |

offenbar, um die Infiltration mit einer sonst schwer eindringenden Flüssigkeit noch zu ermöglichen.

Einigermaßen gut stimmen die mit der Infiltrationsmethode und nach Alkoholfixierung erhaltenen Resultate dagegen wieder bei *Anagallis* miteinander überein; doch konnten nicht genügend Messungen vorgenommen werden, um dieses Ergebnis verallgemeinern zu dürfen; denn die Pflanze war inzwischen durch Nachtfröste geschädigt worden.

Tabelle 13 (Fortsetzung).

e) *Mercurialis annua* (U).

| Inf. | Spaltweiten im Mittel (a) und Maximum (b), Verhältnis von Länge : Weite (c), Fläche in $\mu^2$ (d) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | a) 2,6 | 3,2 | 3,6 | 6,3 | 9,1 | | | |
| | b) 11 | 12 | 8 | 21 | 19 | | | |
| | c) 27,8 | 21,8 | 20 | 11,2 | 8,8 | | | |
| | d) 3,3 | 3,8 | 4,4 | 6,4 | 12,5 | | | |
| 4 | a) 5,3 | 6,6 | 9,5 | | | | | |
| | b) 15 | 11 | 25 | | | | | |
| 5 | a) 2,7 | | | | | | | |
| | b) 8 | | | | | | | |
| 6 | a) 3,6 | 4,8 | 5,7 | 5,7 | 7,3 | 11,5 | 14,5 | 15,5 |
| | b) 15 | 12 | 11 | 15 | 15 | 27 | 24 | 24 |
| | c) 21,1 | 16,0 | 13,2 | 12,8 | 11,1 | 6,5 | 4,6 | 3,5 |
| | d) 4,6 | 6,3 | 7,2 | 7,0 | 10,0 | 14,6 | 16,8 | 15,0 |
| 7 | a) 5,9 | 6,8 | 8,1 | 9,5 | 10,2 | 12,9 | 16,9 | |
| | b) 18 | 20 | 17 | 23 | 20 | 26 | 29 | |
| 8 | a) 8,8 | 12,8 | 15,6 | | | | | |
| | b) 26 | 22 | 26 | | | | | |
| | c) 9,2 | 6,7 | 5,2 | | | | | |
| | d) 12,1 | 18,8 | 21,6 | | | | | |

f) *Elatostemma sessile.*

| Inf. | Weite im Mittel | maximale Weite | Länge : Weite | Fläche in $\mu^2$ |
|---|---|---|---|---|
| 6 | 10,9 | 25 | 7,9 | 15,4 |
| 8 | 3 | 15 | 31,3 | 4,8 |
| 8 | 4,1 | 9 | 20,2 | 5,7 |
| 8 | 8,1 | 19 | 9,7 | 10,4 |
| 8 | 9,7 | 16 | 7 | 11,1 |

Bei *Vinca minor* fällt am meisten der große Spielraum in den Spaltenweiten für denselben Infiltrationsgrad (7) auf. Da bei dieser Pflanze auch die Spaltlängen ziemlich stark wechseln, konnte vielleicht durch Zugrundelegung des Verhältnisses von Länge zu Weite ein klareres Bild gewonnen werden. Von einer Ausnahme abgesehen (Spaltgröße 4,3 bei Infiltrationsgrad 6), kommen denn auch tatsächlich gleichen relativen Spaltenweiten nicht mehrere Infiltrationswerte zu; doch bleibt auch bei Berechnung der relativen Spaltweiten der erwähnte große Spielraum in der Spaltenweite für Infiltrationsgrad 7 bestehen. Die Tatsache, daß ein und derselbe Infiltrationsgrad sehr verschiedenen Spaltenaperturen zukommt, könnte vielleicht unter anderem auch der Grund dafür sein, daß *Vinca* bei Infiltrationsversuchen während des Tages meist wenig Unterschiede in der Infiltration, abgesehen von der abendlichen Spaltenverengerung, zeigt, also ziemlich träge zu reagieren scheint; ob aber wirklich eine solche Reaktionsträgheit der Spalten vorhanden ist oder bloß durch die Infiltrationsergebnisse vorgetäuscht wird, könnte freilich nur durch die Anwendung einer anderen Methode entschieden werden.

Keinerlei Proportionalität mehr zwischen den Ergebnissen der beiden Methoden ist nun aber bei *Mercurialis annua* zu finden. Wenn man z. B. sieht, daß einer mittleren Spaltweite von neun Teilstrichen sowohl der Infiltrationsgrad 3 wie auch 8 zukommen kann, oder daß beim Infiltrationsgrad 6 ungefähr alle überhaupt vorkommenden mittleren Weiten vertreten sind, so läßt sich aus den Infiltrationserfolgen auf die wirklichen Spaltenaperturen wohl gar nichts mehr schließen. Auch bei Berücksichtigung der maximalen Spaltweiten entwirrt sich das Bild nicht, ebensowenig wenn man an Stelle der absoluten Porusweiten das Verhältnis ihrer Länge zur Weite setzt, wie das in Tabelle 13e für die weit auseinander liegenden Infiltrationsgrade 3, 6 und 8 geschehen ist. Man muß sich die Frage vorlegen, ob die Intensität der Infiltration nicht auch von dem Gesamtöffnungsareal der Spalten pro Flächeneinheit abhängen könnte, das als Produkt aus der Fläche einer Durchschnittsspalte und der Anzahl der pro Flächeneinheit vorhandenen Spalten zu berechnen wäre. Leider habe ich die Zahl der Spalten nicht festgestellt; daher habe ich in Tabelle 13e nur die Fläche einer Spalte, die aus dem Durchschnitt der je 30 Messungen berechnet wurde, ohne Rücksicht auf ihre Häufigkeit angegeben. Bei dieser Berechnungsweise zeigt sich in der Tat eine

etwas bessere Übereinstimmung zwischen Infiltration und Spaltweite; aber etliche grobe Unstimmigkeiten bleiben doch noch immer bestehen. Man könnte sie mit dem Einwand zu verstehen suchen, das Objekt sei überhaupt ungünstig wegen der Spaltenöffnung bei der Fixierung, die beobachteten Unstimmigkeiten seien also vielleicht als eine Folge der versagenden Alkoholmethode anzusehen.

Diese Möglichkeit fällt nun bei *Elatostemma sessile* fort; trotzdem kommen auch hier, wie die wenigen Zahlen beweisen (vgl. Tab. 13 f), sehr starke Unterschiede zwischen dem Ausfall der Infiltration und der direkten Spaltenmessung an alkoholfixierten Stomata vor, die weder bei Berechnung der maximalen Weiten, noch durch eine solche der relativen Spaltweiten, noch schließlich durch Berechnung der Flächengrößen erklärbar werden.

## 5. Vergleichung der Infiltration mit den Weiten der lebenden Stomata.

Um noch sicherer zu entscheiden, ob die beobachteten Unstimmigkeiten wirklich auf den Besonderheiten der Infiltration beruhen, habe ich schließlich noch die Infiltration mit den am lebenden Blatt direkt beobachteten Spaltweiten verglichen. Die Methode war dieselbe wie bei den im II. Abschnitt unter 3. beschriebenen Versuchen, nämlich Oberflächenbeleuchtung mittels Vertikalilluminators. Die meisten solchen Messungen habe ich bei *Elatostemma sessile* ausgeführt, deren Blätter teils an einer eingetopften Pflanze belassen, teils abgeschnitten und sofort untersucht wurden; einen dritten Teil der Blätter endlich ließ ich abgeschnitten zunächst eine Zeitlang liegen (von $^3/_4$—$6^1/_2$ Stunden), so daß sie erst im welken Zustande untersucht wurden. Dabei habe ich darauf geachtet, daß jedes Mal dieselbe Stelle infiltriert wurde, an der zuvor die Spaltenweiten gemessen worden waren. Einige charakteristische Resultate sind in Tabelle 14 zusammengestellt. Es zeigt sich, daß im allgemeinen den weiter offenen Spalten in der Tat höhere Infiltrationsgrade zukommen, wenn sich auch im einzelnen keine Regelmäßigkeit erkennen läßt. Diese fehlt aber vollkommen bei den nur wenig geöffneten Spalten; alle Infiltrationsgrade von 2—9 sind nämlich bei diesen vertreten, ja die stärkste bei *Elatostemma* gefundene Infiltration findet sogar bei einem Blatt statt, dessen Spaltweiten im Durchschnitt nur vier Teilstriche (d. h. 0,6 $\mu$) betragen, und dessen maximale Spaltenöffnung nur zehn Teilstriche

(1,5 $\mu$) erreicht. Das ist höchst überraschend. Beachtet man nun den in der 4. Kolumne der Tabelle angegebenen Zustand des Blattes, so läßt sich die Tatsache feststellen, daß die stärksten Unterschiede zwischen Infiltrationsgrad und Spaltweiten bei den welken Blättern vorkommen, daß dagegen keines der frischen Blätter mit engen Spalten ganz hohe Infiltrationsgrade aufweist, obgleich man einen genauen Parallelismus auch bei ihnen vermißt. Hiernach scheint dem Welken irgend ein besonderer Einfluß auf die Infiltration zuzukommen.

Tabelle 14.

Infiltrationsgrad und Spaltweiten bei direkter mikroskopischer Beobachtung an *Elatostemma sessile*.

| Inf. | Spaltweiten | | Zustand des Blattes | Dauer des Welkens | Inf. | Spaltweiten | | Zustand des Blattes | Dauer des Welkens |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mittel | Maximum | | | | Mittel | Maximum | | |
| 7 | 1,0 | 4 | welk | 50 Min. | 3 | 4,8 | 10 | welk | 45 Min. |
| 4 | 1,9 | 5 | „ | „ | 5 | 7,8 | 16 | frisch | |
| 8 | 1,9 | 6 | „ | 1 Std. | 5 | 9,8 | 19 | „ | |
| 2 | 2,1 | 6 | frisch | | 6 | 15,0 | 17 | „ | |
| 4 | 2,3 | 8 | trocken | $6^1/_2$ Std. | 8 | 18,4 | 29 | „ | |
| 8 | 2,8 | 15 | welk | 2 „ | 7 | 25,5 | 33 | „ | |
| 5 | 3,4 | 9 | frisch | | 8 | 30,5 | 36 | „ | |
| 9 | 4,0 | 10 | welk | 6 „ | | | | | |
| 7 | 4,1 | 19 | trocken | $6^1/_2$ „ | | | | | |

Um ein analoges, ebenfalls noch unverständliches Verhalten beim Welken könnte es sich in früheren Versuchen an *Impatiens parviflora* gehandelt haben, deren Blätter in der Mittagshitze schlaff und welk herabhingen, sich aber gleichwohl noch sehr stark, sogar noch mit Paraffin infiltrieren ließen, während turgeszente Blätter benachbarter *Impatiens*-Pflanzen nur noch schwache Infiltration mit Xylol zeigten. Freilich ist es hier ebenso gut möglich, daß bei den welken Pflanzen die Stomata weit offen waren; denn untersucht habe ich bei ihnen die Spaltenaperturen nicht. Eine leichte Infiltrierbarkeit welker Blätter wurde auch sonst noch manchmal beobachtet.

Weitere solche vergleichenden Versuche wie mit *Elatostemma* habe ich an den Blattunterseiten von *Anagallis arvensis*, *Convallaria majalis* und *Mercurialis perennis* angestellt; doch konnte ich dabei leider das Verhalten welker Blätter nicht beobachten, da diese

Pflanzen ihre Spalten vor dem Welkwerden schlossen. Im übrigen stimmen die für die Spaltweiten gefundenen Werte mit den Infiltrationsgraden der Isobutylalkohol-Glykolreihe kaum bei *Anagallis*, dagegen ziemlich gut bei *Convallaria* und *Mercurialis perennis* überein.

Im vorhergehenden ist vorwiegend diese Infiltrationsreihe berücksichtigt worden; doch beschränken sich die gefundenen Unstimmigkeiten — wie schon mehrfach betont — durchaus nicht nur auf sie. So habe ich auch bei den letztgenannten Pflanzen (vgl. für *Convallaria* Tab. 15) keinen Parallelismus zwischen Spaltweiten und Infiltrationsgraden in Versuchen mit Petroläther- und Xylolinfiltration gefunden.

Tabelle 15.

Xylolinfiltration und Spaltweiten bei direkter mikroskopischer Beobachtung (Obj. DD) an *Convallaria majalis*.

| | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Spaltweite (Maximum) | 0 | 2 | 9 | 3 | 7 | 2 | 9 | 12 | 9 | 10 | 12 | 13 |
| Spaltweite (Mittel) . | 0 | 0,4 | 1,8 | 2,0 | 2,8 | 2,8 | 3,4 | 4,2 | 5,8 | 6,2 | 7,0 | 10,8 |
| Infiltration . . . . | — | pf | pf | P | v | P | gt | — | — | v | gt | gt |

## 6. Mögliche Ursachen der beobachteten Unstimmigkeiten.

Daß also bei der Infiltrationsmethode eine Menge verschiedenster Unregelmäßigkeiten vorkommen kann, muß nach dem Gesagten als Tatsache angenommen werden. Da drängt sich natürlich die Frage nach den Gründen solcher Unstimmigkeiten auf. Derartige Ursachen sind offenbar aufs engste verknüpft mit den Faktoren, von denen überhaupt die Infiltration ganz allgemein abhängig ist. Mit dieser „theoretischen Grundlage der Infiltrationsmethode“ hat sich Ursprung (1925) in seiner schönen Arbeit „Über das Eindringen von Wasser und anderen Flüssigkeiten in Interzellularen“ auseinandergesetzt. Er weist dabei nach, daß die Intensität der Infiltration abhängig ist von der Anfangsgeschwindigkeit des kapillaren Aufstiegs einer Flüssigkeit, d. i. abhängig von der Formel $h'^2 = \frac{1}{2} r \cdot \frac{1}{\eta} \cdot a \cos \vartheta \cdot t$, wobei $h'$ die in der Zeit t erreichte Höhe, r den Radius der Kapillaren, $\eta$ die Zähigkeit der Infiltrationsflüssigkeit, a deren Oberflächenspannung, $\cos \vartheta$ die Benetzbarkeit ($\vartheta$ = Randwinkel des von der

Flüssigkeit auf der Unterlage gebildeten Tropfens) ist, daß also Zähigkeit und Oberflächenspannung einer Flüssigkeit sowie die Benetzbarkeit der Interzellularen durch sie die maßgebenden Faktoren beim Eindringen sind.

Nach der genannten Formel dürfte bei geringen Veränderungen einer im allgemeinen guten Benetzbarkeit unter sonst gleich bleibenden Bedingungen der numerische Wert der Formel, d. h. für uns die Stärke des Eindringens, nur geringfügig schwanken, da für einen kleinen Winkel der Cosinus mit dessen Zunahme (Abnahme) nur langsam abnimmt (wächst). Doch glaube ich auf Grund einiger Beobachtungen, daß gewisse Flüssigkeiten sich der oben genannten Formel nicht fügen.

Infiltriert man nämlich die Blätter einer Pflanze mit verschiedenen Alkoholen, so findet man erstaunlicherweise, daß wasserfreier Methylalkohol gar nicht oder nur sehr wenig eindringt, jedenfalls meist schlechter als entwässerter Äthylalkohol. Bei 22 verschiedenen, wahllos zusammengestellten Pflanzenarten, die noch durch beide Alkohole infiltrierbar waren, drang der Methylalkohol nur in zwei Fällen gleich gut, nur in einem Fall besser ein als Äthylalkohol. Bei diesen Pflanzen und noch zahlreichen weiteren, deren Spalten für Methylalkohol nicht mehr passierbar waren (im ganzen 40), infiltrierte Propylalkohol mit nur zwei Ausnahmen besser als Äthylalkohol. Isopropyl-, die Butyl- und Amylalkohole drangen noch besser ein als Propylalkohol. Jedoch wechselte für die höheren Alkohole die Reihenfolge oft; eine bestimmte solche Folge ließ sich auch schon deshalb schwer feststellen, weil die Infiltrationsbilder verschieden waren.

Wie verhalten sich nun diese Beobachtungen zu den physikalischen Konstanten dieser Alkohole? Nach den Tabellen in Landolt-Börnstein ist die Kapillaritätskonstante für sämtliche Alkohole nahezu gleich (vgl. die Zusammenstellung in Tab. 16), dagegen nimmt die Viskosität mit wachsender Zahl der C-Atome sogar zu; mit anderen Worten: die bessere Infiltration der höheren Alkohole kann nicht durch diese Konstanten bedingt sein. Es kommen also nur Unterschiede in der Benetzbarkeit in Frage. Über diese suchte ich mich auf dieselbe Weise, wie auf S. 810 für die Glykolreihe beschrieben, zu orientieren. Dabei zeigte sich, daß im allgemeinen das Benetzungsvermögen sämtlicher Alkohole relativ gut ist, daß aber doch oft deutliche Unterschiede zwischen ihnen wahrnehmbar sind, derart, daß die Alkohole vom Methyl-

bis zum Isopropylalkohol (mit einer Ausnahme) zunehmend besser benetzen, bei den höheren dagegen die Benetzbarkeit nur noch wenig und untereinander sehr unregelmäßig zunimmt. Das heißt aber, daß für die Benetzungsverhältnisse dieselbe Reihenfolge wiederkehrt, die ich für die Infiltration festgestellt hatte. Schon nach diesen Tatsachen ist der Schluß berechtigt, daß die Benetzbarkeit bei der Infiltration eine ungleich höhere Rolle spielen muß als die übrigen in der Formel enthaltenen Faktoren.

Tabelle 16.

Zähigkeit ($\eta$) und Oberflächenspannung (a) verschiedener Alkohole (nach Landolt-Börnstein).

| | $\eta$ (bei 20° C) | a in $\frac{\text{Dyn}}{\text{cm}}$ |
|---|---|---|
| Methylalkohol | 0,006 | 23,02 (20° C) |
| Äthylalkohol | 0,012 | 22,03 (20° C) |
| Propylalkohol | 0,023 | 23,82 (16,4° C) |
| Isopropylalkohol | 0,024 | 21,43 (16,3° C) |
| Butylalkohol (n) | 0,029 | 24,41 (17,4° C) |
| Isobutylalkohol | 0,039 | 22,78 (16,2° C) |
| Amylalkohol | 0,051 | |
| Isoamylalkohol | | 23,72 (16,4° C) |
| [Zum Vergleich: Wasser] | 0,010 | 72,53 (20° C) |

Das sieht man noch deutlicher, wenn man Zahlenwerte für verschiedene Flüssigkeiten in die Formel einsetzt (die Werte für die Radien der Stomatal- und Interzellularkanäle bleiben alsdann natürlich unverändert). Nahezu gleich sind die Kapillaritätskonstanten der Alkohole; für Methyl- und Isobutylalkohol dürften die Unterschiede zwischen ihrer auf gleiche Temperatur (in der Tabelle 20° und 16,2°!) bezogenen Oberflächenspannung so gering sein, daß sie praktisch ausscheiden. Diese beiden Flüssigkeiten wurden daher der Rechnung zugrunde gelegt. Es bleibt dabei nur noch das Produkt aus der Fluidität $\frac{1}{\eta}$ und dem Cosinus des Randwinkels zu berechnen. Dieser Randwinkel überschreitet (schätzungsweise!) für den am schlechtesten benetzenden Methylalkohol wohl nie 30°. Nimmt man für den Methylalkohol diesen

Wert und für den Isobutylalkohol sogar vollkommene Benetzung ($\vartheta = 0^0$) an, so erhält man:

$$\frac{h'^2}{t} \text{ für Methylalkohol} : \frac{h'^2}{t} \text{ für Isobutylalkohol} =$$

$$\frac{1}{0{,}006} \cos 30^0 : \frac{1}{0{,}039} \cos 0^0 = 144{,}3 : 26,$$

also Werte, die sehr auf stärkeres Eindringen des Methylalkohols hindeuten. Selbst wenn man für diesen einen Randwinkel von $80^0$ annehmen will, obwohl etwas Ähnliches nie beobachtet werden konnte, liegt der Wert bei diesem Alkohol noch etwas höher als für den Isobutylalkohol (28 : 26). Auch für den besser benetzenden Äthylalkohol ergibt selbst noch ein Randwinkel von $70^0$ einen etwas höheren Wert als beim Isobutylalkohol. Denkbar ist ja, daß die Benetzbarkeit der Interzellularenwände sehr viel geringer ist als die der Blattoberflächen; dafür ist aber ohne weiteres kein plausibler Grund einzusehen. Dann aber bleiben nur die Möglichkeiten übrig, entweder daß die Benetzbarkeit einen viel bedeutenderen Einfluß auf die Infiltration hat, als ihr nach der Formel zukommt, oder daß ein noch unbekannter, aber der Benetzbarkeit vollkommen parallel gehender Faktor bei der Infiltration eine Rolle spielt, oder aber schließlich daß diese Formel für die pflanzlichen Kapillaren mit ihren der Form und Größe nach wechselnden Querschnitten und ihrem komplizierten Verlauf überhaupt keine Gültigkeit besitzt.

Die hohe Bedeutung der Benetzbarkeit für die Infiltration geht auch aus verschiedenen weiteren Beobachtungen hervor, für die freilich der mehr oder minder große Einfluß anderer Faktoren gänzlich dahingestellt bleiben muß. Blätter von *Convallaria majalis* lassen sich im allgemeinen unterseits viel besser infiltrieren als oberseits; dagegen ergibt die Kobaltpapierprobe auf der Oberseite eine bedeutend stärkere Rötung als auf der Unterseite (manchmal verhalten sich dabei die beiden Seiten auch gleich, seltener transpiriert die Unterseite stärker). Auch gleichzeitig mit beiden Methoden ausgeführte Messungen ergaben diese Gegensätzlichkeit: stärkere Infiltration auf der Unter-, stärkere Rötung auf der Oberseite. In einigen wenigen Versuchen, bei denen auf beiden Seiten der Infiltrationsunterschied in der angegebenen Weise sehr groß, die Rötung dagegen gleich war, wurden noch die durchschnittlichen Spaltweiten an alkoholfixierten Schnitten gemessen: auch

sie waren auf beiden Seiten gleich. Ein und dieselbe Flüssigkeit infiltriert also bei gleichen Öffnungsweiten der Spalten auf der Blattunterseite besser als auf der Oberseite; das kommt nun freilich häufig vor, ist aber in diesem Falle deswegen besonders beachtenswert, weil diese Maiglöckchenblätter (es waren Sonnenindividuen) vollkommen isolateral, selbst hinsichtlich der Spaltenzahlen, gebaut waren. Auch ein Unterschied in der Dicke der Kutikula war nicht zu erkennen, ebensowenig ein einseitiger Wachsüberzug oder dergleichen. Gleichwohl war aber die Benetzbarkeit der beiden Seiten verschieden; das ließ sich schon erkennen, wenn man Wasser darüber laufen ließ: von der Oberseite lief es glatt ab, auf der Unterseite blieben einzelne Tropfen haften. Und diese verschiedene Benetzbarkeit war offenbar für den Infiltrationserfolg ausschlaggebend.

Lehrreich ist mitunter auch das Verhalten eines auf eine Blattseite aufgesetzten Tropfens irgendeiner Flüssigkeit. Dringt ein solcher auch nach längerer Zeit nicht mehr ein, so hält man die Annahme für berechtigt, daß unter den gegebenen Umständen eine Infiltration durch diese Flüssigkeit nicht mehr möglich ist. Fährt man alsdann aber innerhalb der vom Tropfen bedeckten Fläche mit einem Glasstab leicht über das Blatt, so sieht man oft genau an diesen Stellen die Flüssigkeit eindringen. Häufig erscheint sogar jede mit dem Stabe gezeichnete Figur sofort als dunkles Infiltrationsbild. Entsprechend kann man auch bei infiltrierenden Flüssigkeiten nicht selten beobachten, daß sie, mit einem Glasstabe auf ein Blatt aufgestrichen, viel schneller infiltrieren, als wenn man vorsichtig Tropfen davon auf das Blatt aufsetzt. Um eine Verletzung der Epidermiszellen handelt es sich dabei nicht; denn die betreffenden Glasstäbe waren an ihrem Ende abgerundet; außerdem brauchten sie das Blatt nur leicht zu berühren, und schließlich machte sich der Erfolg nur bemerkbar, wenn man das Blatt nach dem Aufsetzen des Tropfens berührte; bei einer Verletzung müßte dasselbe Bild auch dann entstehen, wenn man die Flüssigkeit erst nach der Berührung auf das Blatt brachte; das war aber niemals der Fall. Dieses Verhalten konnte bei verschiedenen Flüssigkeiten beobachtet werden, vorwiegend bei Paraffin und Alkohol. Über die Vorgänge, die sich dabei abspielen, gibt die Beobachtung unter dem Präpariermikroskop Aufschluß. Auf ein Blatt von *Impatiens sultani* hatte ich einen Tropfen Paraffinöl gebracht. Unter diesem war anfangs (an weißlicher Re-

flektion) eine Luftschicht zu erkennen, die bei der Berührung mit dem Glasstab verdrängt wurde. Durch diese Luftverdrängung kann, wie beiläufig erwähnt sei, Infiltration vorgetäuscht werden; denn es entsteht die charakteristische Aufhellung in der Durchsicht, ein dunkler Strich bei Aufsicht. Benutzt man Wasser an Stelle des Paraffins, so entsteht bei manchen Blättern dasselbe Bild. Doch ist ein Zweifel an der wirklich erfolgten Infiltration dann ausgeschlossen, wenn die Flüssigkeit sich in den Interzellularen ausbreitet, was häufig der Fall ist. Es handelt sich dann also um eine Änderung der Benetzbarkeit der Blätter: das Lufthäutchen wird verdrängt, die Benetzbarkeit hiermit erhöht, und die Flüssigkeit kann eindringen. Merkwürdigerweise kommt ein derartiges Verhalten häufig gerade bei dem sonst doch leicht luftverdrängenden Alkohol vor. Praktisch habe ich übrigens bei allen meinen Infiltrationsversuchen diesem Verhalten dadurch Rechnung getragen, daß ich die Tropfen stets mittels einer kleinen Pipette auf das Blatt auftrug, um eine Berührung zu vermeiden; jene diente gleichzeitig zum Verschluß des betreffenden Fläschchens.

Um einen ähnlichen Vorgang wie den eben beschriebenen handelt es sich auch bei folgender Beobachtung: Ein Flüssigkeitstropfen infiltrierte nicht mehr; er wurde mit Filtrierpapier weggesaugt, und die Stelle leicht abgerieben; dieselbe Flüssigkeit wurde noch einmal auf dieselbe Stelle gebracht, jetzt infiltrierte sie. Z. B. wurde auf der Unterseite eines *Anagallis*-Blattes das Gemisch 6 der Glykolreihe aufgesetzt, das nicht mehr eindrang; es wurde weggewischt und ein neuer Tropfen auf die Stelle gebracht; er infiltrierte sofort an mehreren Punkten. Ein Abwischen des Blattes vor der Betupfung hatte dagegen gar keinen Erfolg. Ich kann mir diesen Vorgang nur so erklären, daß durch den Druck beim Abwischen Oberflächenhäutchen unter der Flüssigkeit verdrängt wurden, und daß diese selbst infolgedessen nunmehr der Oberfläche adhäriert, an der auch trotz des Absaugens noch Reste davon zurückbleiben. Dadurch war aber die Benetzbarkeit für den neu aufgesetzten Tropfen erhöht worden.

Schließlich kann auch die zuerst von Molisch (1912) erwähnte Tatsache, daß absoluter Alkohol sich nur wenig in den Interzellularen ausbreitet, mit veränderten Benetzungsverhältnissen erklärt werden, anstatt, wie Ursprung es tut, durch eine geringe Anfangsgeschwindigkeit im Aufsteigen des Alkohols trotz großer Endsteighöhe; wäre letztere Deutung richtig, so müßte doch immerhin

ein ständiges, wenn auch sehr langsam fortschreitendes Vordringen feststellbar sein, solange noch Flüssigkeit auf der Oberfläche vorhanden ist. Ein solches Vordringen ist aber oft nicht zu sehen, sondern der Infiltrationsbezirk erreicht manchmal schon vorher seine endgültige Größe. Das kann wohl nur daran liegen, daß der „gut benetzende" Alkohol sich durch Wasseraufnahme verdünnt hat, und daß dadurch vornehmlich sein Benetzungsvermögen herabgesetzt und sein Weitervordringen gehemmt worden ist.

Selbstverständlich fragt sich nun, ob mit den Besonderheiten der Benetzungsverhältnisse solche Unstimmigkeiten, wie sie oben hervorgehoben worden sind, hinreichend erklärt werden können. Das wäre nur dann möglich, wenn bei ein und derselben Pflanzenart Änderungen in der Benetzbarkeit vorkommen würden. Das ist in der Tat der Fall. Darauf möchte ich jetzt zu sprechen kommen. Von *Parthenocissus tricuspidata* wurden gleich große, aber verschieden alte Blätter ausgewählt, und zunächst auf ihre spaltenlosen Oberseiten Flüssigkeitstropfen (Isobutylalkohol oder Äthylalkohol) aufgesetzt. Diese zerliefen bei den jungen Blättern vollständig; je älter aber die Blätter waren, um so weniger gut benetzten jene. Da die Spalten der Unterseiten geschlossen zu sein schienen, wurden auch bei diesen entsprechende Versuche angestellt; hier war nun die Benetzbarkeit am größten bei Blättern mittleren Alters, während sie sowohl zu den jüngeren wie zu den älteren abnahm. Ob sich Blätter anderer Pflanzen oder andere Flüssigkeiten ebenso verhalten, wurde nicht weiter verfolgt. Aus den wenigen Tatsachen geht ja ohnedies schon mit aller Deutlichkeit hervor, daß die Benetzungsverhältnisse der Blätter verschiedenen Alters variieren können, eine Tatsache, die nicht verwundern kann, wenn man daran denkt, daß mit zunehmendem Blattalter Veränderungen in den Zellwänden möglich sind, daß ferner auch das Transpirationswasser allerhand Beimischungen enthalten mag, die sich bei seiner Verdunstung vielleicht als feiner Überzug auf den Außenseiten der Zellmembranen mindestens in den Interzellularen festsetzen können. Die dadurch bedingten Benetzungsänderungen werden wohl von Fall zu Fall und für die einzelnen Flüssigkeiten verschieden sein. Mit solchen Benetzbarkeitsänderungen wird wohl auch das in Abschnitt III, 1 besprochene und in Fig. 2 dargestellte Verhalten diesjähriger und vorjähriger Blätter von *Asarum* verständlich.

Schwankungen der Benetzbarkeit könnten vielleicht auch schon durch einen verschiedenen Wassergehalt der Membranen veranlaßt werden: durch das „incipient drying", das von zahlreichen Autoren immer wieder angenommen worden ist (vgl. u. a. Livingston & Brown, 1912). Daß etwa vorhandene Wasserhäute ganz verschieden auf die einzelnen Flüssigkeiten einwirken können, geht schon daraus hervor, daß Isobutylalkohol eine Glasplatte (mit adhärierendem Wasserhäutchen!) ausnahmsweise viel weniger benetzt als einige seiner Gemische mit Glykol, daß aber andererseits z. B. Äthylalkohol nach der Benetzbarkeit der Glasplatte sich gegenüber anderen Flüssigkeiten in dieselbe Reihenfolge einordnet wie nach der Benetzbarkeit anderer Unterlagen, z. B. einer paraffinüberzogenen Glasplatte. Auf solchen durch Wassergehaltsschwankungen verursachten Veränderungen der Benetzungsverhältnisse könnte vielleicht auch das auffallende Verhalten welker Blätter beruhen, die ja mitunter durch ganz besonders hohe Infiltrationsgrade ausgezeichnet waren.

Auch durch Besonnung kann, wie ich an halbbesonnten Oberseiten der Blätter von *Aesculus hippocastanum* festgestellt habe, die Benetzbarkeit geändert werden; freilich waren solche Unterschiede recht schwach und nicht immer vorhanden. Vielleicht beruhen sie ebenfalls auf Wassergehaltsänderungen der Membranen; möglich wäre aber auch eine direkte Beeinflussung durch die Erwärmung.

Selbst durch Erwärmung der Infiltrationsflüssigkeiten können nämlich sehr starke Unterschiede in der Infiltrierbarkeit der Blätter hervorgerufen werden. So fand ich für Isobutylalkohol, der durch Besonnung eine um 7° (auf 32°) erhöhte Temperatur gegenüber dem im Schatten stehenden hatte, bei zahlreichen Pflanzen eine erheblich stärkere Infiltration. Doch ist das nicht bei allen Flüssigkeiten so; z. B. konnte ich nach Erwärmung bei Xylol und Petroleum keine, bei Äthylalkohol nur schwache Unterschiede feststellen. Solche temperaturbedingten Unterschiede können u. a. Mitursache für die manchmal auch bei ein und derselben Pflanzenart vorhandene Umkehrbarkeit innerhalb heterogen zusammengesetzter Reihen sein.

Aus alledem geht eindeutig hervor, daß ein für die Infiltrationserfolge so wichtiger Faktor, wie es die Benetzbarkeit ist, nicht nur von Art zu Art, sondern auch bei ein und derselben Pflanze schwankt, und daß solche Schwankungen zur Erklärung vieler Unstimmigkeiten hinreichen.

Doch kommt neben der Benetzbarkeit gelegentlich noch ein anderer Faktor in Betracht, der in seiner Wirkungsweise sich ähnlich wie jene verhält: das sind Löslichkeitsverhältnisse. Dabei kann man zunächst an die Löslichkeit für Gase der Interzellularenluft denken: sie hat bereits Ursprung (1925) eingehend diskutiert; er ist dabei aber zu dem Schluß gekommen, daß sie bei der Infiltration keine wesentliche Rolle spielen. Daneben kommt aber auch die Löslichkeit für gasförmige, flüssige oder feste Oberflächenüberzüge in den Infiltrationsflüssigkeiten in Frage. Daß eine solche, sogar sehr schnelle Löslichkeit wirklich vorkommt, läßt sich leicht feststellen. Betupft man z. B. die Blattoberseite von *Symphoricarpus racemosus* mit Petroläther, so bleibt nach dessen schneller Verdunstung ein deutlicher Rand zurück. Dasselbe kann man auch bei anderen Blättern (z. B. *Syringa*) beobachten. Um Rückstände aus dem Petroläther infolge verunreinigender Beimengungen handelt es sich dabei nicht; denn bei sehr vielen anderen Pflanzen entsteht ein solcher abwischbarer Rand nicht. Bei dieser Flüssigkeit addiert sich offenbar ihr gutes Lösungsvermögen z. B. für Fette und Wachse noch zu ihren sonstigen Vorzügen, die schon für sich allein ein sehr leichtes Eindringen ermöglichen. Dem guten Lösungsvermögen des Petroläthers glaube ich besonders dann einen größeren Einfluß zuschreiben zu müssen, wenn er selbst da noch schwach eindringt, wo unter dem Mikroskop keine offenen Spalten mehr zu finden sind, was ich gelegentlich z. B. an dünnen Blättern von *Mercurialis perennis* bei durchfallendem Tageslicht beobachtet habe. Durch gutes Lösungsvermögen (für Wachse) zeichnen sich auch die Amylalkohole aus, wie man leicht an einer mit Wachs überzogenen Glasplatte sehen kann, von der das Wachs durch den Tropfen gelöst wird. Inwieweit diese Eigenschaft auch für ihre Infiltration in Frage kommt, läßt sich schwer entscheiden, weil dabei vielleicht auch die große Giftigkeit dieser Alkohole eine Rolle spielt.

Schließlich ist auch noch die Frage zu erwägen, ob die Formel für die Steighöhe in Kapillaren mit kreisförmigem Querschnitt und für die Anfangsgeschwindigkeit des Aufstiegs noch bei Kapillaren anderer Querschnitte, wie wir sie nun einmal in den Spalten vor uns haben, ihre Gültigkeit behält. Ebensowenig läßt sich ohne weiteres sagen, ob die weit offenen Spalten denselben Gesetzen unterliegen wie die zum schmalen, langen Spalt verengten, die ja doch eine ganz andere Querschnittsfigur bilden.

Daß aber auch noch andere, zurzeit unbekannte Faktoren großen Einfluß auf die Infiltrationserfolge haben müssen, geht aus manchen Infiltrationsbildern hervor: Wie kommt es z. B., daß manche Flüssigkeiten immer nur an mehr oder weniger zahlreichen, unregelmäßig verteilten Punkten eindringen, trotzdem die offenen Spalten ziemlich gleichmäßig verteilt sind, ferner daß sie auch dann keine zusammenhängende Fläche infiltrieren, wenn die Gegenspalten offen sind, wenn also dem Eindringen keine Schwierigkeiten durch mangelhafte Luftverdrängung erwachsen? Für solche Bevorzugung einzelner Stellen dürfte sich nicht leicht eine Erklärung geben lassen. Bei der Infiltration scheinen eben noch Verhältnisse mitzuspielen, die wir zurzeit nicht übersehen.

Nach alledem bleibt wohl vorläufig leider nichts anderes übrig, als die Infiltrationsmethode höchst unsicher und sehr bedenklich zu nennen und zugleich als besonders gefährlich einzuschätzen, weil sie häufig einen mehr oder weniger hohen Grad von Sicherheit in der Beurteilung ihrer Erfolge vortäuscht und zugleich wegen ihrer bequemen und schnellen Handhabung von anderen Methoden vorteilhaft abzustechen scheint, weshalb sie bei ökologischen Forschungen als elegante „Feldmethode“ sich darbietet. Nur darüber erlaubt diese Methode mit annähernder Sicherheit Aufschlüsse, ob Spalten offen oder geschlossen sind. Urteile über den Öffnungsgrad der Spalten sind dagegen mit derartig vielen Fehlermöglichkeiten behaftet, daß es ganz ungerechtfertigt erscheint, ohne weiteres darauf zu bauen.

## Abschnitt IV.

### Folgerungen aus meinen Untersuchungen für die Beurteilung der Spaltenaperturen.

Wir haben gesehen, daß 1. die Alkoholmethode zwar für eine Reihe von Pflanzen anwendbar ist, bei vielen anderen aber versagt, 2. daß der Infiltrationsmethode keine Zuverlässigkeit in ihren Ergebnissen zukommt. Ebenso sind die früher von anderen Autoren zur Messung von Spaltöffnungsweiten u. a. noch verwandte Porometer- und Kobaltpapiermethode als unzulänglich erkannt worden; die Gründe dafür darzulegen, ist hier nicht der Ort. Direkte mikroskopische Beobachtung am lebenden Blatt ist in sehr vielen Fällen leider nicht möglich, wo sie aber gelingt, wegen der dafür notwendigen anomalen Beleuchtung stets mit Fehlerquellen be-

haftet. Das gleiche gilt von der direkten Beobachtung der Spaltweiten an frischen, dicken Oberflächenschnitten. Man ist also mit keiner der genannten Methoden allein — für manche Pflanzen allerdings die Alkoholmethode ausgenommen — in der Lage, die Spaltenaperturen zuverlässig zu ermitteln. Das kann m. E. nur durch kritische Kombination mehrerer dieser Methoden erreicht werden. In vielen Fällen bietet es nach meinen Erfahrungen schon Vorteile, mehrere Infiltrationsarten nebeneinander zu verwenden. Unter diesen zeigte sich übrigens meine Isobutylalkohol-Glykolreihe trotz der unbestritten großen Mängel, die auch ihr noch anhaften, den meisten anderen Infiltrationsweisen weit überlegen, und zwar anderen Infiltrationsreihen schon deshalb, weil sie sich nicht aus mehreren verschiedenen Flüssigkeiten, sondern nur aus zwei solchen zusammensetzt, von denen die eine leicht, die andere dagegen gar nicht infiltriert; mit jeder weiteren Flüssigkeit, um die man die Infiltrationsreihen verlängert, muß ja die Zahl der unkontrollierbaren Faktoren anwachsen, die in zurzeit noch unübersehbarer Weise Einfluß auf die Infiltrationsgrade haben.

## Abschnitt V.

## Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Bei gleichzeitiger Verwendung der Lloydschen Alkoholfixierungs- und der Infiltrationsmethode zur Ermittelung von Spaltenaperturen, wobei für die Infiltration zwei verschiedene Reihen benutzt wurden, traten zwischen den Ergebnissen ziemlich große Unstimmigkeiten auf.

2. Durch Vergleichung der Spaltweiten an Schnitten im Wasser und nach Alkoholfixierung konnte nachgewiesen werden, daß die Spalten mit der Alkoholfixierung nicht bei allen Pflanzen im ursprünglichen Zustand konserviert wurden. Durch Vergleichung der stomatären Aperturen am lebenden Blatt, für deren Untersuchung sich der Vertikalilluminator als brauchbar erwies, mit Messungen an fixierten Schnitten ergab sich das gleiche Resultat.

3. Drei Reaktionstypen lassen sich bei Alkoholfixierung feststellen: a) die Spaltweiten verändern sich nicht, b) die Spalten erweitern sich und c) die Spalten verengern sich bei der Fixierung.

4. Bei den bisher benutzten, aus mehreren chemisch ganz verschiedenen Flüssigkeiten bestehenden Reihen kann die Reihenfolge der Infiltration zur selben Zeit für verschiedene Pflanzenarten,

unter wechselnden Bedingungen aber auch für ein und dieselbe Pflanzenart, ja sogar dasselbe Individuum verschieden sein.

5. Deshalb wurde eine neue Reihe aus nur zwei Flüssigkeiten, nämlich aus dem sehr leicht infiltrierenden Isobutylalkohol und dem gar nicht infiltrierenden Glykol und aus deren Mischungen im Verhältnis 1 : 9, 2 : 8 usw. aufgestellt, deren physikalische Konstanten: Viskosität, Kapillaritätskonstante und Benetzbarkeit sich kontinuierlich ändern.

6. Wurden Blätter mit dieser Reihe oder auch einer anderen Flüssigkeit infiltriert und die Spaltenaperturen an alkoholfixierten Schnitten von entsprechender Stelle der anderen Blatthälfte ermittelt, so entsprachen die Ergebnisse dieser beiden Methoden einander manchmal, aber doch nicht immer. Ebensowenig stimmen die Infiltrationsergebnisse stets mit den am lebenden Blatt bei Oberflächenbeleuchtung mittels Vertikalilluminators festgestellten Änderungen der Spaltweiten überein.

7. Für die Infiltration ist die Benetzbarkeit der Zellhäute durch die infiltrierenden Flüssigkeiten von größerer Bedeutung als die innere Reibung und die Oberflächenspannung dieser Flüssigkeiten. Die Benetzbarkeit kann sich aber, unter verschiedenen Verhältnissen sogar bei ein und derselben Pflanze, ändern: sie wechselt erstens mit dem Alter der Blätter; sie muß zweitens auch abhängig sein vom Wassergehalt der Gewebe; sie kann schließlich durch Erwärmung des Blattes sowie der Infiltrationsflüssigkeiten beeinflußt werden; d. h. aber, die Infiltration ist an ein und derselben Pflanze und zwar auch beim selben Spaltenzustand sehr veränderlich.

8. Ferner haben die Löslichkeitsverhältnisse der die Blatt- und die Interzellularenoberflächen überziehenden Substanzen in den Infiltrationsflüssigkeiten auf deren Eindringen Einfluß.

9. Die Infiltrationsmethode kann daher nur offene und geschlossene Spalten mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit feststellen, erlaubt aber allein für sich über den Öffnungsgrad gar nichts auszusagen.

10. Sonach ist weder die Alkoholfixierungs- noch die Infiltrationsmethode ohne weiteres und in vielen Fällen für sich allein geeignet, mit Sicherheit quantitative Unterschiede in der Öffnungsweite der Stomata zu ermitteln, wenn sich auch meine nur aus zwei Flüssigkeiten zusammengesetzte neue Infiltrationsreihe Isobutylalkohol-Glykol den älteren Infiltrationsreihen als überlegen erwiesen hat.

11. Quantitative Forschungen über Spaltenweiten setzen also meist kritische Anwendung mehrerer Methoden voraus.

Vorstehende Untersuchungen wurden im botanischen Institut der Universität Bonn auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Fitting ausgeführt, dem ich meinen aufrichtigen Dank für sein stetes Interesse und seine mannigfaltige Unterstützung aussprechen möchte. Auch dem Oberassistenten des Instituts, Herrn Dr. Bode, bin ich für viele Ratschläge zu Dank verpflichtet. Ferner möchte ich nicht versäumen, Herrn Prof. Dr. Konen, Direktor des physikalischen Instituts, für seine bereitwilligst erteilte Hilfe bei den physikalischen Messungen, sowie Herrn Dr. Lueg, Assistenten am physikalischen Institut, auch an dieser Stelle verbindlichst zu danken.

## Literatur.

1925. Dietrich, M., Die Transpiration der Schatten- und Sonnenpflanzen in ihren Beziehungen zum Standort. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 65, 1925, S. 98—194.

1926. Johansson, N., Ökologische Studien über den Gasaustausch einiger Landpflanzen. Svensk. Bot. Tidskr., Bd. 20, 1926.

1902. Kindermann, Über die auffallende Widerstandskraft der Schließzellen gegen schädliche Einflüsse. Sitzungsber. d. Akad. Wien, math.-nat. Kl., I, Bd. 111, 1902.

1929. Krasnosselsky-Maximow, T. A., Zur Methodik der Bestimmung von Assimilation und Bewegungen der Spaltöffnungen in natürlichen Verhältnissen. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 47, 1929, S. 313—320.

1912. Landolt-Börnstein, Physikalisch-chemische Tabellen. Berlin 1912.

1928. Leick, E., Untersuchungen über den Einfluß des Lichtes auf die Öffnungsweite unterseitiger und oberseitiger Stomata desselben Blattes. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 67, 1928, S. 771—848.

1916. Linsbauer, K., Beiträge zur Kenntnis der Spaltöffnungsbewegungen. Flora, Bd. 109, 1916, S. 100—143.

1912. Livingston, B. E. and Brown, W. H., Relation of the daily march of transpiration to variation in the water content of foliage leaves. Bot. Gaz., vol. 53, 1912, S. 309—330.

1908. Lloyd, F. E., The Physiology of Stomata. Carnegie Inst. Washington, 1908, Public. 82.

1913. — —, Leaf water and stomatal movements in *Gossypium* and a method of direct visual observation of stomata in situ. Bull. Torrey bot. Club., vol. 40, 1913, p. 1—27.

1921. Loftfield, J. V. G., Behaviour of Stomata. Carnegie Inst. Washington. 1921, Public. 314.

1912. Molisch, H., Das Offen- und Geschlossensein der Spaltöffnungen, veranschaulicht durch eine neue Methode (Infiltrationsmethode). Zeitschr. f. Bot., Bd. 4, 1912, S. 106—122.

1928. Müller, D., Die Kohlensäureassimilation bei arktischen Pflanzen und die Abhängigkeit der Assimilation von der Temperatur. Planta, Bd. 6, 1928, S. 22—39.

1925. Nicolič, M., Beiträge zur Physiologie der Spaltöffnungsbewegungen. II. Über die Beziehung der Stomatärbewegung zur Lichtintensität. Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. 41, 1925, S. 327—346.

1910. Renner, O., Beiträge zur Physik der Transpiration. Flora, 1910, Bd. 100, S. 451—547.

1915. Ruhland, W., Untersuchungen über die Hautdrüsen der Plumbaginaceen. Ein Beitrag zur Biologie der Halophyten. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 55, 1915, S. 409—498.

1928. Schmucker, Th., Über den Einfluß narkotischer Stoffe auf Transpiration und Wasserleitung. Ebenda, Bd. 68, 1928, S. 771—800.

1916. Stålfelt, M. G., Über die Wirkungsweise der Infiltrationsmethode von Molisch und einige andere Versuche mit derselben. Svensk. Bot. Tidskr., Bd. 10, 1916, S. 37—46.

1925. — —, Die Lichtökonomie der arktischen Pflanzen. Ebenda. Bd. 19, 1925, S. 192—214.

1927. — —, Die photischen Reaktionen im Spaltöffnungsmechanismus. Flora, Bd. 21, 1927, S. 236—272.

1928. — —, Die Abhängigkeit der photischen Spaltöffnungsreaktionen von der Temperatur. Planta, Bd. 6, 1928, S. 183—191.

1912. Stein, E., Bemerkungen zu der Arbeit von Molisch: „Das Offen- und Geschlossensein der Spaltöffnungen.“ Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 30, 1912, S. 66.

1913. — —, Über Schwankungen der stomatären Öffnungsweite. Diss. Jena, 1913.

1925. Ursprung, A., Über das Eindringen von Wasser und anderen Flüssigkeiten in Interzellularen. Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. 41, 1925, S. 15—40.

1923. Weber, Fr., Zur Physiologie der Spaltöffnungsbewegungen. Österr. bot. Zeitschr., Bd. 72, 1923, S. 43—57.

1926a. — —, Hitzeresistenz funktionierender Schließzellen. Planta, Bd. 1, 1926, S. 533—557.

1926b. — —, Hitzeresistenz funktionierender Stomata-Nebenzellen. Ebenda, Bd. 2, 1926, S. 669—677.

# Lebenslauf

Geboren am 2. Mai 1900 zu Godesberg als Tochter des Polsterermeisters Peter Schorn, katholischen Bekenntnisses, besuchte ich, Margarete Schorn, von Ostern 1906 bis Ostern 1909 die katholische Volksschule zu Godesberg, von Ostern 1909 bis Ostern 1916 das Lyzeum St. Antonius daselbst und von Ostern 1916 bis Ostern 1920 das private Oberlyzeum inkl. Seminarklasse zu Hersel, wo ich Ostern 1919 die Reife- und Ostern 1920 die Lehramtsprüfung ablegte. In Koblenz bestand ich Ostern 1929 eine Ergänzungsprüfung zur Erlangung der Oberrealschulreife. Von Ostern 1920 an war ich mit kurzer Unterbrechung bis zu meiner im Herbst 1921 erfolgten Immatrikulation an der Universität Bonn am Lyzeum St. Antonius in Godesberg als Lehrerin tätig. Ausschließlich in Bonn studierte ich bis Ende des Sommersemesters 1929 vorwiegend Botanik, Zoologie, Geographie und Geologie, und zwar widmete ich mich seit Anfang 1926 unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Fitting hauptsächlich experimentellen botanischen Untersuchungen. Die mündliche Promotionsprüfung fand am 19. November 1929 statt.